

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES DE
CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y LA CORRELACIÓN CON SU PERFIL
ESPECTROSCÓPICO**

POR

PAOLA ELIZABETH GURROLA VILLASEÑOR

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

NOVIEMBRE, 2016

**“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES DE
CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y LA CORRELACIÓN CON SU PERFIL
ESPECTROSCÓPICO”**

Aprobación de la tesis:

Dra. en C. Aurora de Jesús Garza Juárez

Presidente

PhD. Ana Laura Isabel de la Garza Hernández

Secretario

Dr. Juan Ricardo Lucio Gutiérrez

Vocal

DEDICATORIA

A mi Salvador y Señor

...al Rey de los siglos, inmortal, invisible, al único y sabio Dios, sea honor y gloria por los siglos de los siglos. Amén (1 Ti. 1:17).

A mis padres

Ricardo Gurrola Mar y María Teresa de Jesús Villaseñor Estrada

*Honra a tu padre y a tu madre, que el primer mandamiento con promesa (Ef. 6:2).
Gracias por su apoyo, paciencia y comprensión.*

FINANCIAMIENTO

El presente trabajo de investigación fue financiado: Por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) mediante el proyecto titulado: **“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES DE CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y LA CORRELACIÓN CON SU PERFIL ESPECTROSCÓPICO”** (15-FaSPyN-SA-13).

Por el Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) de la Universidad Autónoma de Nuevo León titulado “Proyecto de Apoyo a la Incorporación de Nuevos PTC” (Clave PROMEP/103.5/11/4330).

Por el apoyo brindado a la investigación científica de este trabajo por parte del Laboratorio de Nutrición del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud-UANL (CIDICS-UANL) bajo la dirección de la Dra. en C. Aurora de Jesús Garza Juárez.

ÁREA DE TRABAJO

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en las siguientes áreas de trabajo:

Laboratorio de Nutrición del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud-UANL (CIDICS-UANL) bajo la dirección de la Dra. en C. Aurora de Jesús Garza Juárez.

Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la UANL, bajo la supervisión del Dr. Juan Ricardo Lucio Gutiérrez.

Laboratorio de Química y Bioquímica de la Facultad de Agronomía de la UANL, bajo la supervisión del Dr. Guillermo Niño Medina.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por guiarme en este proceso y por colocar a las siguientes personas en mi camino.

A mi familia, por apoyarme incondicionalmente en cada etapa de mi carrera.

A mi novio, Gerardo Arredondo gracias por elegirme como tu compañera de vida, te quiero muchísimo.

A mis maestros de la Biblia: Felipe de Jesús Granados, Isa Marina Barrientos y Ricardo Díaz, gracias por todas sus atenciones.

A mis compañeros de generación: Gerardo, Sofía, Otoniel, Angélica, Laura, Mariana y Rosario. Gracias por todas las experiencias que compartimos juntos.

A la Dra. Aurora de Jesús Garza Juárez, por dirigirme en este proceso de enseñanza y aprendizaje y brindarme la oportunidad de trabajar en el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS-UANL).

Al Dr. Ricardo Lucio Gutiérrez, por compartirme sus conocimientos de espectroscopia de infrarrojo y por abrirme las puertas de su oficina, aún en fines de semana para sacar el trabajo adelante.

A la Dra. Ana Laura Isabel de la Garza Hernández, por su profesionalismo y dedicación como maestra, asesora y colega. Gracias por involucrarse en mi proyecto e involucrarme a mí en los suyos.

A Yennifer Vázquez, Daniela Camarillo y Roberto de la Rosa, por aventurarse en este camino y permitirme compartir mis conocimientos con ustedes.

Al Dr. Guillermo Niño Medina y a las estudiantes Valeria Quintanilla y Karen Galindo por recibirme en la Facultad de Agronomía y apoyarme en mi trabajo.

Por último, quiero agradecer a la Facultad de Salud Pública y Nutrición (FaSPyN-UANL) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) que por medio del programa de Maestría en Ciencias en Nutrición contribuyeron a mi formación.

ÍNDICE

| | |
|--|------------|
| RESUMEN | xiv |
| ABSTRACT | xv |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II ANTECEDENTES | 3 |
| 2.1 <i>Allium</i> species | 3 |
| 2.2 Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.) | 3 |
| 2.3 Medicina tradicional complementaria | 9 |
| 2.3.1 Plantas medicinales | 10 |
| 2.3.2 Alimentos funcionales y nutraceuticos..... | 11 |
| 2.3.3 Beneficios de los compuestos fenólicos en la salud | 11 |
| 2.4 Compuestos fenólicos | 12 |
| 2.5 Métodos de análisis de compuestos fenólicos totales | 18 |
| 2.6.1 Método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu | 19 |
| 2.6.2 Medición de la capacidad antioxidante | 20 |
| 2.6.2.1 Método del radical DPPH..... | 20 |
| 2.7 Caracterización espectroscópica de <i>Allium cepa</i> L..... | 21 |
| III JUSTIFICACIÓN | 24 |
| IV HIPÓTESIS | 25 |
| V OBJETIVOS | 25 |
| 5.1 Objetivo general | 25 |
| 5.2 Objetivos específicos | 25 |
| VI MATERIAL Y MÉTODOS | 26 |
| 6.1 Equipo, material y reactivos. | 27 |
| 6.1.1 Equipo | 27 |
| 6.1.2 Material | 28 |
| 6.1.3 Reactivos | 29 |
| 6.1.4 Material vegetal..... | 29 |
| 6.2 Estandarización del proceso de tratamiento previo de la muestra | 30 |
| 6.2.1 Bulbo completo | 30 |
| 6.2.2 Licuefacción | 30 |
| 6.2.3 Extracción con solvente | 30 |
| 6.3 Almacenamiento de las muestras | 32 |

| | |
|---|-----------|
| 6.4 Establecimiento de las condiciones de análisis instrumental (FTIR) ... | 32 |
| 6.4.1 Rango de medición. | 32 |
| 6.4.2 Cantidad de muestra y tiempo de evaporación | 32 |
| 6.4.3 Limpieza del diamante del RTA | 33 |
| 6.4.4 Espectro de fondo | 33 |
| 6.4.5 Velocidad de escaneo | 33 |
| 6.5 Obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio y | |
| determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. | 33 |
| 6.5.1 Obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio. | 33 |
| 6.5.2 Determinación de compuestos fenólicos totales..... | 33 |
| 6.5.3 Determinación de la capacidad antioxidante | 34 |
| 6.6 Plan de análisis estadístico | 34 |
| 6.6.1 Datos espectroscópicos | 34 |
| 6.6.2 Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante | 35 |
| 6.6.3 Correlación entre capacidad antioxidante y perfil espectroscópico .. | 35 |
| VII Resultados | 40 |
| 7.1 Estandarización del proceso de tratamiento previo de la muestra | 40 |
| 7.2 Establecimiento de las condiciones de análisis instrumental (FTIR) ... | 44 |
| 7.3 Obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio y | |
| determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. | 45 |
| 7.3.1 Material vegetal..... | 45 |
| 7.3.2 Obtención del perfil espectroscópico | 45 |
| 7.3.3 Determinación de compuestos fenólicos totales..... | 49 |
| 7.3.4 Determinación de la capacidad antioxidante | 51 |
| 7.4 Correlación entre el perfil espectroscópico y el contenido de | |
| compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante | 52 |
| 7.4.1 Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales para estimar la predicción | |
| de compuestos fenólicos totales..... | 53 |
| 7.4.2 Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales para estimar la predicción | |
| de capacidad antioxidante | 55 |
| VIII DISCUSIÓN..... | 58 |
| 8.1 Estandarización de la técnica para la obtención del perfil espectroscópico de | |
| <i>Allium cepa</i> L. | 58 |
| 8.2 Material vegetal..... | 58 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 8.3 | Análisis de Componentes Principales | 59 |
| 8.4 | Compuestos Fenólicos Totales y Capacidad Antioxidante | 60 |
| 8.5 | Preprocesamiento de datos para los modelos de RMCP | 61 |
| 8.5.1 | Correlación entre el perfil espectroscópico y el contenido de compuestos fenólicos totales..... | 62 |
| 8.5.2 | Correlación entre el perfil espectroscópico y capacidad antioxidante | 63 |
| IX | CONCLUSIONES..... | 65 |
| X | PERSPECTIVAS | 67 |
| XI | BIBLIOGRAFÍA..... | 68 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------------------|--|
| α | Alfa |
| $\mu\text{g EQ g}^{-1}$ | Microgramos equivalentes de quercetina por gramo de muestra |
| μL | Microlitro |
| μm | Micrómetro |
| $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ | Micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra |
| -OH | Grupo hidroxilo |
| ACP | Análisis de Componentes Principales |
| ANOVA | Análisis de varianza |
| ASCII | Código Americano Estándar para el Intercambio de Información |
| CA | Capacidad Antioxidante |
| Ca | Calcio |
| CFT | Compuestos Fenólicos Totales |
| cm | Centímetro |
| cm^{-1} | Centímetro a la menos uno |
| CV | Coeficiente de variación |
| DPPH | 2, 2- difenil-1-picrilhidrazilo |
| ENT | Enfermedades no transmisibles |
| EtOH | Etanol |
| Fe | Hierro |
| FT-IR | Espectroscopía de infrarrojo medio con transformada de Fourier |
| g | Gramo |
| Ge | Germanio |
| H_0 | Hipótesis nula |
| H_A | Hipótesis alternativa |
| LAR | Laciresinol |
| M | Concentración Molar |
| MAT | Matairesinol |
| mg/mL | Miligramo por mililitro |
| min | Minuto |
| mL | Mililitro |
| mm | Milímetro |
| Mo_8O_{23} | Óxido de molibdeno |
| MTC | Medicina tradicional complementaria |

| | |
|---------------------------------|---|
| N | Concentración Normal |
| Na ₂ CO ₃ | Carbonato de Sodio |
| ° C | Grados Celsius |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| pH | Potencial de hidrógeno |
| PIN | Pinoresinol |
| RMCP | Análisis de Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales |
| R· | Radical libre |
| R ² | Coeficiente de correlación |
| RMSECV | Media cuadrática del error estándar de validación cruzada |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| RTA | Reflectancia Total Atenuada |
| S | Azúfre |
| Se | Selenio |
| SECO | Secoisolarcinol |
| seg | Segundo |
| TROLOX | 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico |
| UV/Vis | Ultravioleta/Visible |
| W ₈ O ₂₃ | Óxido de tungsteno |
| Zn | Zinc |

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

| Figura | Título |
|--------|---|
| 1. | Clasificación de los compuestos polifenoles y flavonoides. |
| 2. | Estructura básica de un compuesto flavonoide. |
| 3. | Colores comerciales más comunes de cebolla. |
| 4. | Inflorescencia de cebolla con tallo floral y umbela. |
| 5. | Diagrama de flujo de la metodología. |
| 6. | Métodos de preprocesamiento probados para la obtención del análisis de ACP. |
| 7. | Métodos de preprocesamiento probados para la obtencion del modelo de RMCP. |
| 8. | Pruebas de RMCP para la predicción de compuestos fenólicos totales. |
| 9. | Pruebas de RMCP para la predicción de compuestos fenólicos totales. |
| 10. | Perfil espectroscópico de las distintas variedades de <i>Allium cepa</i> L. |
| 11. | Perfiles espectroscópicos de <i>Allium</i> species obtenidos por Lu y cols (2011). |
| 12. | Preprocesamientos probados para la obtención del análisis de ACP. |
| 13. | ACP del perfil espectroscopico de <i>Allium Species</i> . |
| 14. | ACP del perfil espectroscopico de <i>Allium Species</i> . |
| 15. | Gráfica de loadings del perfil espectroscopico de <i>Allium</i> Spp. |
| 16. | Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos totales. |
| 17. | Gráfica de comparación del puntaje medio de compuestos fenólicos totales. |
| 18. | Curva de calibración para la determinación de capacidad antioxidante. |
| 19. | Gráfica de comparación del puntaje medio de capacidad antioxidante. |
| 20. | Coeficientes de correlación obtenidos para los diferentes preprocesamientos previos a la obtención de RMCP. |
| 21. | Patrones de inclusión de muestras para la predicción de CFT mediante RMCP |
| 22. | Modelo de análisis multivariante por RMCP de compuestos fenólicos totales a partir de datos espectroscópicos. |
| 23. | Patrones de inclusión de muestras para la predicción de CA mediante RMCP |
| 24. | Modelo de análisis multivariante por RMCP de capacidad antioxidante totales a partir de datos espectroscópicos. |

| Tabla | Título |
|--------------|---|
| I. | Composición nutrimental de la cebolla cruda (<i>Allium cepa</i> L.) |
| II. | Número de señales e intervalo de intensidades. |
| III. | Coeficiente de variación de los perfiles espectroscópicos de las diferentes variedades de cebolla, aplicando el método de extracción con solvente M2. |
| IV. | Principales bandas distintivas del espectro de <i>Allium species</i> |
| V. | Variables modificadas en el establecimiento de condiciones de análisis instrumental. |
| VI. | Peso y diámetros del material vegetal. |
| VII. | Contenido de compuestos fenólicos totales. |
| VIII. | Capacidad antioxidante en extracto etanólico M2. |
| IX. | Principales bandas distintivas del espectro de <i>Allium species</i> . |

“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES DE CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y LA CORRELACIÓN CON SU PERFIL ESPECTROSCÓPICO”

Presentado por L.N. Paola Elizabeth Gurrola Villaseñor

RESUMEN

INTRODUCCIÓN.- La cebolla (*Allium cepa* L.) es un vegetal rico en compuestos antioxidantes como polifenoles y flavonoides cuyo consumo está relacionado con beneficios a la salud. Sin embargo, dada la diversidad de sus variedades, en el presente estudio se examinaron las diferencias de su contenido fenólico total y capacidad antioxidante a partir de su caracterización espectroscópica mediante infrarrojo medio con transformada de Fourier, para posteriormente proponer modelos de predicción de dichas actividades con el empleo de técnicas quimiométricas.

OBJETIVO.- Determinar el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de 4 variedades de cebolla (*Allium cepa* L.) y correlacionar con su perfil espectroscópico por infrarrojo medio.

MATERIAL Y MÉTODOS.- Se establecieron pruebas para estandarizar la obtención del perfil espectroscópico a partir de distintos métodos de procesamiento de muestra, el método seleccionado se empleó para obtener los registros espectroscópicos, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. Las diferencias de medias de éstas dos últimas variables se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Los datos espectroscópicos fueron analizados mediante análisis de componentes principales y se construyó un modelo de regresión por mínimos cuadrados parciales para predecir la actividad biológica a partir de ellos.

RESULTADOS.- La variedad morada mostró mayor contenido de compuestos fenólicos totales y de capacidad antioxidante. El análisis de componentes principales separó las variedades de estudio en agrupaciones definidas con 3 componentes y 64.39% de la varianza explicada. Se obtuvo buena correlación ($R^2 > 0.90$) entre los valores de referencia y valores predichos de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante a partir de los perfiles espectroscópicos.

CONCLUSIÓN.- Existe correlación entre el perfil espectroscópico de infrarrojo medio de las variedades de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada con su capacidad antioxidante y contenido fenólico total.

Dra. en C. Aurora de Jesús Garza Juárez

Director

“ANTIOXIDANT CAPACITY OF DIFERENT ONION VARIETIES (*Allium cepa* L.) AND ITS CORRELATION WITH THE SPECTROSCOPIC PROFILE”

Presented by L.N. Paola Elizabeth Gurrola Villaseñor

ABSTRACT

INTRODUCTION.- Onion (*Allium cepa* L.) is a vegetable rich in antioxidant components such as polyphenols and flavonoids. However, due to the varieties of onion, total phenolic content and antioxidant capacity were examined. The spectroscopic profile through mid-infrared Fourier transform were measured and correlated with the total phenolic content and antioxidant capacity to finally propose prediction models using chemometric techniques.

OBJECTIVE.- To evaluate the content of total phenolic compounds and antioxidant capacity of 4 varieties of onion (*Allium cepa* L.) and correlate with mid-infrared spectroscopic profile.

MATERIAL AND METHODS.- Different tests were established to standardize the spectroscopic profile from various sample processing methods, the selected method was used for the obtaining of spectroscopic records, total phenolic content and antioxidant capacity. Analysis of variance (ANOVA) tests were used to analyze mean differences of the content of phenolic compounds and antioxidant capacity. Spectroscopic data were analyzed using principal components analysis (PCA) and partial least squares regression (PLSR) models to predict biological activity from the mid-infrared data.

RESULTS.- Red onion showed higher content of total phenolic compounds and antioxidant capacity. The PCA achieved the separation of the varieties within defined groups with 3 componentes and 64.34% of explained variance. Correlation ($R^2 > 0.90$) were obtained between referenced and predicted values of total phenolic content and antioxidant capacity from spectroscopic profiles.

CONCLUSION.- Correlation between mid-infrared spectroscopic profile of the yellow, white, red and chambray onion with the antioxidant capacity and total phenolic compounds were found.

Dra. en C. Aurora de Jesús Garza Juárez

Director

I. INTRODUCCIÓN

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una fuente natural de antioxidantes para el desarrollo de productos nutraceuticos o de valor agregado, debido a su alto contenido de fructanos, compuestos organosulfurados y compuestos fenolicos. Los compuestos fenolicos, especialmente los flavonoides quercetina y kaempferol son metabolitos secundarios acumulados en altas concentraciones en los bulbos de cebolla; se ha estudiado la participaci3n de los compuestos fenolicos como posibles responsables de su actividad antioxidante (Albishi et al., 2013; Gonz3lez-Peña et al., 2013; Lee et al., 2014; Sharma et al., 2014; Wang et al., 2016)

Existen diferentes métodos de conservaci3n, extracci3n y análisis instrumental probados en distintas variedades de cebolla para el análisis rápido de estos metabolitos; sin embargo, la diversidad en su contenido de fitoquímicos, puede ser influenciada por sus condiciones de cultivo, su variedad, estado de maduraci3n y condiciones post-cosecha. Por tal motivo, es importante el establecimiento de la huella dactilar de este alimento con potencial nutraceutico, que permita evaluar la calidad de algunas de sus actividades biológicas (Baciu et al., 2013; Lu, et al., 2011; Tsao et al., 2010)

Los antioxidantes juegan un importante rol en el desarrollo de enfermedades no transmisibles (ENT) pues son compuestos que estabilizan los radicales libres producidos por especies reactivas de oxígeno. Los cereales enteros, frutas y vegetales son considerados como fuentes de antioxidantes como vitamina C, vitamina E, carotenoides, compuestos fenolicos (flavonoides y ácidos fenolicos), fitoestrógenos y compuestos nitrogenados (Ambriz-Pérez et al., 2016; Mollavali et al., 2016).

Reportes de estudios epidemiológicos indican que las dietas ricas en alimentos de origen vegetal traen consigo una disminuci3n en el riesgo a padecer enfermedades no transmisibles (Andújar et al., 2012; Crozier et al., 2009; Greyling et al., 2016; Madrid-Gambin et al., 2016; Martin et al., 2016).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el consumo escaso de alimentos de origen vegetal es un factor de riesgo comportamental para desarrollar enfermedades no transmisibles (como enfermedad cardiovascular, cáncer, enfermedad obstructiva crónica y diabetes), además del uso nocivo del alcohol y tabaco, la ingesta excesiva de sodio y actividad física insuficiente (OMS, 2014; Reininger et al., 2015; Secretaría de Salud, 2015).

A tal efecto la OMS ha alentado la investigación de vegetales que tradicionalmente se han empleado dentro de la medicina tradicional complementaria (MTC). Por ello es de interés la investigación de antioxidantes naturales provenientes de fuentes botánicas, especialmente por su contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante (Kamiloglu et al., 2014; OMS, 2013).

II. ANTECEDENTES

2.1 *Allium* species

Las especies vegetales del género *Allium*, son una importante fuente dietética de productos fitoquímicos antioxidantes capaces de estabilizar los radicales libres, tales como los compuestos organosulfurados, flavonoides, fitoalexinas, además de trazas de elementos como Ge, Ca, Fe, Zn, Se y S. Estos vegetales, llamados *Allium* spp. contienen también aminoácidos, proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas y enzimas que contribuyen a su valor nutricional y características terapéuticas (Fritsch et al., 2006; Micheli et al., 2015).

Algunos ejemplos de estas plantas son el cebollín (*Allium schoenoprasum* L.), ajo (*Allium sativum* L.), puerro (*Allium porrum* L.), chalote (*Allium escalonicum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) (Albishi et al., 2013; Kirk et al., 1984, Abdel-Gawad et al., 2014).

A lo largo de la historia, los miembros de *Allium* spp. han sido utilizados como alimento o como plantas medicinales; varias investigaciones han demostrado que las diferentes especies del género *Allium* pueden ser útiles en la prevención de enfermedades crónico degenerativas (Micheli et al., 2015).

2.2 Cebolla (*Allium cepa* L.)

La cebolla es una planta bienal del género *Allium*, de la familia *Aliliaceae* que se consume casi diariamente por la mayor parte de la población, siendo un componente básico de la dieta en muchos países. El origen de la cebolla se localiza en Asia central. Es una de las hortalizas más antiguas, siendo los primeros referentes los cultivos de los egipcios, griegos y romanos, cerca del año 3,200 a.C. (Kaur et al., 2016; Medina et al., 2008).

2.2.1 Características botánicas

Las características de este cultivo se describen a continuación:

2.2.1.1 Taxonomía

| | |
|----------------|-----------------------|
| Sub. Reino: | Embriofita |
| División: | Fanerógama |
| Sub. División: | Angiosperma |
| Clase: | Monocotiledónea |
| Orden: | Liliales |
| Familia | <i>Alliaceae</i> |
| Género: | <i>Allium</i> |
| Especie: | <i>Allium cepa</i> L. |

(Medina et al., 2008; Institute of Plant Science and Genetics in Agriculture, 2002)

2.2.1.2 Morfología

Las características morfológicas tales como tamaño del bulbo, forma, color y pungencia son algunos de los principales criterios de clasificación de la cebolla (Gökçe et al., 2010).

La semilla de la cebolla tiene dos caras, la primera surge en la etapa de desarrollo y es de color blanco y superficie lisa; posterior a esta etapa se torna negra y rugosa. Consta de un tegumento seminal rico en hidratos de carbono, proteínas y lípidos. Finalmente, cuando la semilla germina, alrededor de una semana después de la siembra, brota su raíz. Un gramo de semillas es suficiente para producir de 300 a 500 plántulas aptas para la siembra (Medina et al., 2008).

La cebolla cuenta en promedio con 80 raíces que se desarrollan en los primeros 35 a 60 cm sobre el nivel del suelo; este sistema es limitado, por ello es un cultivo propenso a las malezas; el único mecanismo de defensa contra esta situación es la constante renovación de sus raíces, las cuales mueren gradualmente, al paso que van formándose nuevas (Medina et al., 2008).

Hay dos tipos de tallos en la cebolla, uno verdadero que se sitúa sobre la base de los bulbos, es a partir de este tallo que aparecen las yemas, hojas y raíces; el otro tallo es donde brotan sus flores. El tallo de una cebolla madura puede alcanzar una altura de hasta 150 cm (Medina et al., 2008).

La cebolla presenta hojas cilíndricas, huecas, en ocasiones cerosas, formadas por dos partes: el limbo y la vaina. Dependiendo del cultivar y de las condiciones de crecimiento, una cebolla puede llegar a desarrollar entre 12 y 20 hojas (Medina et al., 2008).

Dadas las condiciones óptimas de fotoperíodo y temperatura, las hojas de la cebolla se engrosan, dando lugar al bulbo, el cual está formado por túnicas escamosas transitorias, las yemas y el tallo verdadero. Las túnicas escamosas se van secando a medida que avanza el desarrollo del bulbo. La parte comestible de la cebolla es comúnmente el bulbo, que se caracteriza por su sabor y aroma pungente que le confieren sus compuestos sulfurados (Griffiths et al., 2002; Hur et al., 2013; Lee et al., 2014, Medina et al., 2008).

La clasificación de los bulbos se basa en la medida de su diámetro ecuatorial y es un indicador de su estado de maduración.

- Bulbos de primera: con diámetro ecuatorial superior a 5.5 cm.
- Bulbos de segunda: con diámetro ecuatorial entre 4.0 y 5.5 cm.
- Bulbos de tercera: aquellos con diámetro ecuatorial entre 2.5 y 4.0 cm.
- Bulbos no comerciales: son aquellos que tienen diámetro ecuatorial menor a 2.5 cm., normalmente corresponden a las cebollas dobles o aquellas que fueron dañadas por contaminación (Medina et al., 2008).

El color del bulbo en la cebolla es un factor genético, asociado a la variedad. Los colores comerciales son: blanca, amarilla dorada, morada, rosada y roja (Medina et al., 2008).



Figura 3. Colores comerciales más comunes de cebolla: 1: blanca, 2: amarilla, 3: roja y 4: rosada (Medina et al., 2008).

En el tallo floral se pueden formar entre 50 a 2,000 flores; éstas son de color blanco pardas y tienen una corola formada por 6 pétalos, un cáliz de seis sépalos, un androceo de seis estambres, con ovario súpero y triocular formado por dos óvulos en lóbulo. El fruto de la cebolla es una cápsula con tres carpelos, en la que se forman hasta seis semillas (Medina et al., 2008).



Figura 4. Inflorescencia de cebolla con tallo floral y umbela.

2.2.2 Composición química y valor nutricional

La composición química de la cebolla (por 100 g de producto comestible) se presenta en la tabla I. Además de los macronutrientes, algunos de sus

constituyentes más conocidos son vitaminas, minerales, compuestos organosulfurados como alil disulfuro de propilo y enzima alinasa, y trazas de elementos como Na, K, Fe, S, I, Si (Butnariu et al, 2014; de Souza et al., 2015; Putnoky et al., 2013; Samfira et al., 2013).

Tabla I. Composición nutrimental de la cebolla cruda (*Allium cepa* L.)

| Constituyentes | Valor / 100 g (unidades) |
|-------------------------|--------------------------|
| Energía | 166 kJ (40 kcal) |
| Hidratos de Carbono | 9.34 g |
| Azúcares | 4.24 g |
| Fibra Dietética | 1.7 g |
| Vitaminas | |
| Tiamina | 0.046 mg (4%) |
| Riboflavina | 0.027 mg (2%) |
| Niacina | 0.116 mg (1%) |
| Ácido pantoténico | 0.123 mg (2%) |
| Vitamina B ₆ | 0.12 mg (9%) |
| Folato | 19 µg (5%) |
| Vitamina C | 7.4 mg (9%) |
| Lípidos | 0.1 g |
| Proteínas | 1.1 g |
| Agua | 89.11 g |
| Minerales | |
| Calcio | 23 mg (2%) |
| Hierro | 0.21 mg (2%) |
| Magnesio | 10 mg (3%) |
| Manganeso | 0.129 mg (6%) |
| Fósforo | 29 mg (4%) |
| Potasio | 146 mg (3%) |
| Zinc | 0.17 mg (2%) |
| Fluoruro | 1.1 µg |

(Adaptado de USDA, 2004 y Butnariu et al., 2014)

2.2.3 Producción de cebolla

Este cultivo se consume en forma fresca y como especia en diversas preparaciones culinarias y se ha convertido en uno de los vegetales de mayor relevancia a nivel mundial, con una producción de aproximadamente 55 millones de toneladas por año (Griffiths et al., 2002; Hur et al., 2013; Lee et al., 2014).

En México, según el servicio de información agroalimentaria y pesquera, su producción asciende aproximadamente a 1,518,971.92 toneladas, siendo Chihuahua, Zacatecas, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas las entidades federativas responsables del 55.40% de tal cifra (SAGARPA, 2014).

2.2.4 Variedades de cebolla

Las diferentes variedades de cebolla existen principalmente en tres colores: amarilla, blanca y morada, que además de contener compuestos azufrados responsables de su flavor, son conocidas por su contenido de vitaminas, minerales, aminoácidos y fitoquímicos como carotenoides, antocianinas, fenoles y flavonoides (Butnariu, 2014; Etxeberria et al., 2012; González-Peña et al., 2013; Hur et al., 2013; Lee et al., 2014; Sharma et al., 2014).

2.2.5 Compuestos fenólicos de la cebolla

Estudios sugieren que este vegetal corresponde a la mayor fuente dietética de flavonoides, sobre todo flavonoles como quercetina y kaempferol, y sus glucósidos (Wang et al., 2016).

2.6.5.1 Flavonoles de la cebolla

Los glucósidos de flavonoles se encuentran principalmente en las hojas, las flores, y las partes exteriores de las plantas, tales como la piel y la cáscara y disminuye la concentración hacia el núcleo central. Solamente pequeñas cantidades de flavonoles se encuentran en partes de la planta por debajo de la superficie del suelo, con la notable excepción de cebollas (Aherme et al., 2002).

La quercetina tiene la más alta actividad de eliminación de radicales debido a la disponibilidad de hidrógeno fenólico, lo que hace que sea una biomolécula de interés. Las cebollas amarillas contienen más altos niveles de quercetina que las moradas, mientras que las blancas poseen menores concentraciones (Butnariu, 2014; Etxeberria et al., 2012; González-Peña et al., 2013; Hur et al., 2013; Lee et al., 2014; Sharma et al., 2014).

2.2.6 Actividades biológicas y beneficios de la cebolla

Estudios científicos han reportado efectos antioxidantes, anticancerígenos, antimicrobianos, antimutagénicos y antiproliferativos de la cebolla (Butnariu, 2014; Etxeberria et al., 2012; González-Peña et al., 2013; Hur et al., 2013; Lee et al., 2014; Sharma et al., 2014).

Reportes de ensayos clínicos aleatorizados muestran que el consumo de cebolla (ya sea como complemento de la dieta o en forma de extracto) aporta beneficios a poblaciones afectadas con disfunción endotelial, hiperlipemia e hipercolesterolemia (Arai et al., 2000; Bordia et al., 1975; Choi et al., 2015; Kim et al., 2013; Nakamura et al., 2014).

2.3 Medicina tradicional complementaria

El término medicina tradicional complementaria (MTC) se refiere a un conjunto de prácticas de atención de salud que forman parte de la propia tradición de un país y no están integradas en el sistema sanitario principal. La MTC se basa en el uso tradicional de medicamentos herbarios (como hierbas completas o preparaciones y productos a base de ellas) que contienen como principios activos partes de plantas, u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos (López et al., 2016).

La OMS alienta la investigación estratégica en materia de MTC, para lo cual respalda proyectos de investigación clínica sobre su seguridad y eficacia y aboga por el uso racional de la MTC mediante el fomento de su utilización basada en pruebas científicas (OMS, 2013).

2.3.1 Plantas medicinales

Las plantas medicinales son recursos, cuyas partes o extractos se emplean como drogas que ejercen una acción farmacológica. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de droga vegetal y puede suministrarse bajo diferentes formas farmaceuticas (como cápsulas, comprimidos, cremas, decocciones, elixires, infusiones, jarabes, tinturas, ungüentos, etc.) (Meza et al., 2016).

La diversidad de plantas medicinales disponible varía según las regiones y los ecosistemas de cada zona donde habitan. En México se reconocen 24,042 especies de plantas, de las cuales se han registrado alrededor de 3,000 con aplicaciones medicinales, lo que equivale aproximadamente a 12.5% del total de la riqueza florística del país; no obstante, solo 1% ha sido estudiado de forma detallada (Meza et al., 2016).

Las plantas han sido utilizadas desde tiempos prehistóricos hasta el desarrollo de las drogas sintéticas en el siglo XIX, por lo que se consideran como la base de casi todas las terapias medicinales (Kamiloglu et al., 2014).

En el pasado, este tipo de terapia era empleada por los médicos tradicionales, entre otros usos, como agentes inmuno-moduladores y como tratamiento complementario de trastornos cardiovasculares (Baharvand-Ahmadi et al., 2016).

En la actualidad, aproximadamente el 64% de la población mundial utiliza medicamentos botánicos para combatir los problemas de salud; en Irán, por ejemplo, se estima que el 80% de los medicamentos son de origen natural (Khan et al., 2016).

Existen reportes de algunas hierbas y especias que además de servir como complementos aromáticos en la práctica culinaria, se han empleado en la medicina tradicional por miles de años. Hoy día estas hierbas y especias se utilizan como ingredientes activos de alimentos funcionales, como por ejemplo el té. Por esta razón existe un foco de atención especial en torno a la investigación de antioxidantes naturales provenientes de fuentes botánicas, especialmente al contenido de compuestos fenólicos y a su capacidad antioxidante. Una especie vegetal que cumple con estas características es la cebolla (*Allium cepa* L.), cuyas propiedades se exponen en apartados previos de este escrito (Kamiloglu et al., 2014; Li et al., 2016; Lu et al., 2011; Wang et al., 2016).

2.3.2 Alimentos funcionales y nutraceuticos

Actualmente se reconoce la importancia de una dieta balanceada como la clave para la prevención de ENT, por lo que la fina línea divisoria entre la alimentación y la medicina trajo como resultado el uso de alimentos funcionales y nutraceuticos. La definición de “alimento funcional” por parte de la Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos hace referencia a “cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud superior al de los nutrientes tradicionales que contiene” ; por otro lado se define como alimento nutraceutico a cualquier sustancia que pudiera considerarse alimento, o parte de él, que proporcione beneficios médicos o para la salud en general, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades. (Abuajah et al., 2014; Andlauer et al., 2002; Mueller et al., 1999; Pravst et al., 2012; Thomas et al., 1994).

2.3.3 Beneficios de los compuestos fenólicos en la salud

Las dietas ricas en frutas, vegetales y otros alimentos derivados de plantas, como el té, café, vino tinto y chocolate disminuyen la incidencia de ENT, de manera particular existe una asociación entre una ingesta dietética abundante en flavonoides y una disminución en el riesgo a padecer enfermedad cardiovascular, según reportes de estudios epidemiológicos; el común denominador de estos

alimentos es la presencia de compuestos fenólicos (Andújar et al., 2012; Crozier et al., 2009; Greyling et al., 2016; Madrid-Gambin et al., 2016; Martin et al., 2016; Warner et al., 2016).

Aunque existen factores de riesgo fisiológicos para el desarrollo de ENT dentro de los factores de riesgo modificables se encuentra el consumo insuficiente de alimentos de origen vegetal (Borja-Aburto et al., 2015; Correia-Costa et al., 2016; Lohse et al., 2016; Mozaffarian et al., 2014; OMS, 2015; Reiningger et al., 2015; Rivas-Marino et al., 2015; Suckling et al., 2015; Wu et al., 2015).

La búsqueda de la cura específica para estos padecimientos ha consistido en intensas averiguaciones sobre el desarrollo de sustancias farmacológicas que actúen sobre el medio interno. Sin embargo, se prevé que dado el costo de las terapias actuales aunado a la gravedad de sus efectos colaterales, pueden conducir a una mayor tendencia en el consumo de plantas medicinales o especies vegetales para el cuidado de la salud (Frenk et al., 2016; Marvibaigi et al., 2016).

2.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios acumulados en altas concentraciones en muchas especies de plantas comestibles. También son llamados polifenoles. El término “fenólicos” hace alusión a compuestas que poseen un anillo aromático que presenta un grupo hidroxilo (-OH), mientras que “polifenoles” quiere decir que pueden contener uno o más anillos aromáticos a los que se unen varios grupos hidroxilo. Actualmente se han reconocido más de 8000 estructuras de compuestos fenólicos las cuales se han clasificado según su fuente de origen, su función biológica, y su estructura química (Foti et al., 2016; Tsao et al., 2010).

Según su estructura química, los compuestos fenólicos pueden ser clasificados en ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, ácidos elágicos y flavonoides (ver figura 1). A continuación se describen brevemente cada uno de ellos:

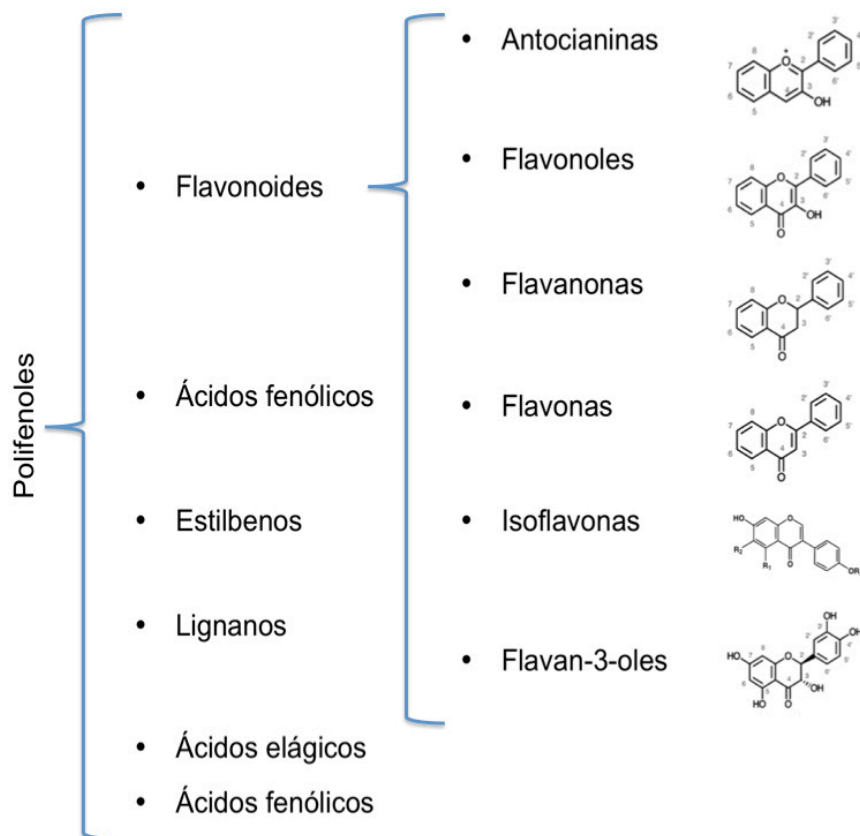


Figura 1. Clasificación de los compuestos polifenoles y flavonoides (Adapatado de Trembl et al., 2016 y Tsao et al., 2010)

2.4.1 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos están ampliamente distribuidos por el reino vegetal, se dividen en dos grupos: los derivados del ácido benzoico (ácidos hidroxibenzoicos, con estructuras C6-C1') y los derivados del ácido cinámico (ácidos hidroxicinámicos, con estructuras C6-C3'). Estos ácidos están presentes ya sea de forma libre conjugados con azúcares y otros compuestos de bajo peso molecular (solubles) o ligados por enlaces tipo éster a los polímeros estructurales de la pared celular como celulosa, lignina y/o proteínas (insolubles). Estos compuestos generalmente se encuentran de forma libre en alimentos como frutas y verduras; mientras que en los cereales se mantienen ligados a la cáscara y el salvado. Dentro de las actividades biológicas de los ácidos fenólicos se encuentran la actividad antioxidante, anti-inflamatoria, antiviral, antiaterogénica,

antibacterial y anticancerígena (Chan et al., 2016; Farhoosh et al., 2016; Nicoletti et al., 2013; Tsao et al., 2010; Zhang et al., 2012).

2.4.2 Estilbenos

Los estilbenos son una pequeña familia de metabolitos secundarios derivados de la vía de los fenilpropanoides; se encuentran en un amplio rango taxonómico de plantas ejerciendo en ellas funciones protectoras. La mayoría de los estilbenos se derivan del trans-resveratrol. Específicamente el resveratrol, un estilbeno presente en el vino tinto, ha sido ampliamente estudiado debido a su propiedad de disminuir la progresión de ciertas enfermedades como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Yin et al., 2016).

2.4.3 Lignanos

Los lignanos se distribuyen en todo el reino vegetal y constituyen un número de compuestos difenólicos no nutritivos que se han clasificado en secoisolarcinol (SECO), matairesinol (MAT), laciresinol (LAR), pinioresinol (PIN), medioresinol y syringaresinol. A este grupo de compuestos fenólicos pertenecen el +(-)pinioresinol y 1-acetoxipinioresinol, lignanos con actividad anti-tumoral y la oleuropeína con actividad anti-inflamatoria. Aunque estos compuestos se encuentran en todos los alimentos de origen vegetal, sus fuentes dietéticas más importantes son el aceite de oliva y los cereales de granos enteros, especialmente de la familia *Linaceae*, como las semillas de lino, semillas de sésamo y linaza (*Linum usitatissimum*) (Bolvig et al., 2016; Koch et al., 2015; Lapi et al., 2015; López-Biedma et al., 2016; Sepporta et al., 2013; Vega et al., 2016).

2.4.4 Ácidos elágicos

El ácido elágico es un potente compuesto bioactivo que se encuentra en muchas especies vegetales, especialmente en las frutas en forma de taninos hidrolizables, también llamados elagitaninos, éstos compuestos son derivados del ácido hidroxibenzóico y forman parte de las estructuras de las paredes celulares de la membrana celular. El potencial de los elagitaninos en la industria

farmacológica se debe a sus propiedades anticarcinogénicas, antibacteriales, antivirales, anti-mutagénicas, antioxidantes y anti-inflamatorias. Estudios recientes sugieren que dos fuentes dietéticas importantes de estos compuestos son la granada (*Punica granatum*) y la cúrcuma (*Curcuma longa*) (Ahmad et al., 2012; Bobinaité et al., 2016; Khatri et al., 2016; Landete et al., 2011; Rosillo et al., 2011).

2.4.5 Flavonoides

Los flavonoides son los compuestos fenólicos más abundantes. El término flavonoide generalmente se utiliza para describir una amplia colección de productos naturales que poseen un esqueleto común difenilpirano ($C_6-C_3-C_6'$) en las que las unidades C_6 corresponden a dos anillos aromáticos bencénicos conocidos como anillo “A” y “B” que se unen por un puente de 3 átomos de carbono (C_3) (Foti et al., 2016; Peñarrieta et al., 2014, Tsao et al., 2010).

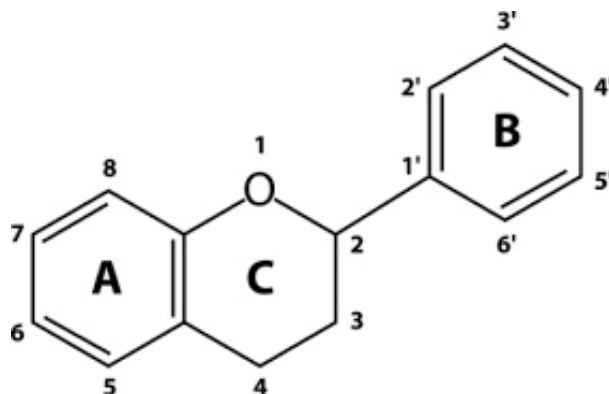


Figura 2. Estructura básica de un flavonoide
(Adaptado de Peñarrieta et al., 2014)

Los flavonoides provenientes de las plantas suelen presentar sitios de unión para al menos tres hidroxilos fenólicos, sin embargo, generalmente, se encuentran combinados con una o varias unidades de azúcares en forma de glicósidos. Cuando estas uniones con azúcares están ausentes, se les llama agliconas libres, este tipo de estructuras son menos abundantes que los glicósidos (Mbamalu et al., 2016)

Los flavonoides se clasifican a su vez en distintos subgrupos dependiendo del patrón de hidroxilación de su anillo C. Las actividades biológicas de los

flavonoides, incluyendo su actividad antioxidante, pueden variar dependiendo de sus diferencias en estructura y patrones de glicosilación (ver Figura 2.3.5). A continuación se enlistan los distintos tipos de flavonoides, así como sus funciones principales y ejemplos de alimentos en los que se localizan:

2.4.5.1 Antocianinas

Son un grupo de pigmentos solubles de las plantas. Las antocianinas son las responsables de una amplia gama de colores, incluyendo azul, púrpura, violeta y rojo brillante, encontrándose en frutas, flores, hojas, granos, y algunas raíces. Estos compuestos desempeñan funciones de protección de los tejidos de las plantas contra el frío, la sequía, estrés y radiación ultravioleta. La col roja (*Brassica oleracea* L.), la col rizada (*Brassica oleracea* var. *acephala*) y uvas empleadas en la formulación de vino (*Vitis vinífera*) tienen un alto contenido de antocianinas (Gervasi et al., 2016; Socquet-Juglard et al., 2016).

2.4.5.2 Flavanoles o Flavan-3-oles

Son también llamados proantocianidinas (en este grupo se incluyen los compuestos derivados de catequina y epicatequina) poseen funciones antioxidantes. Algunas de las plantas y alimentos abundantes en flavan-3-oles son los granos no fermentados de la planta de cacao (*Theobroma cacao* L.), vino tinto y orujo de uva. Recientemente se ha aislado un compuesto de este tipo llamado teaflavina-3-galato de la planta de té (*Camellia sinensis*) (Evina et al., 2016; Kamio et al., 2016; Kumar et al., 2016; Syed et al., 2017)

2.4.5.3 Flavonas

Las flavonas participan en conjunto con las antocianinas en procesos de copigmentación, también son moduladores de la fotoreactividad, protegen a las plantas contra los efectos nocivos de la radiación ultravioleta, esto es posible gracias a los componentes estructurales cinamoilo y bezyol, que presentan dos picos de absorción en el espectro ultravioleta, uno de 290-400 y otro a 240-285 nm, respectivamente. Las funciones de las flavonas se han estudiado ampliamente en las leguminosas, donde actúan como moléculas de señalización en el desarrollo de sus nódulos radiculares, como reguladores de la interacción

planta-hongo durante la etapa de pre-colonización y como compuestos inhibidores de organismos herbívoros como insectos y nemátodos; aunque también se han aislado de hierbas como *Aerva monsoniae* y *Trollius ledebourii* (Chiluka et al., 2016; Jiang et al., 2016; Monici et al., 1993).

2.4.5.4 Flavanonas

Las flavanonas se caracterizan por la ausencia del doble enlace en el anillo heterocíclico y por la presencia de un grupo carbonilo. Al igual que otros tipos de flavonoides, juegan un papel clave en la señalización de la planta, la defensa contra la radiación ultravioleta, los microbios y animales herbívoros. Las flavanonas agliconas de origen natural más importantes son la naringenina y hesperidina. Estos compuestos están presentes en las raíces, semillas, hojas, flores, fruto y corteza de muchas plantas cítricas, por ejemplo el pomelo (*Citrus Paradisi*), limón (*Citrus limon*), naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) y mandarina (*Citrus unshiu* Marc) (Aschoff et al., 2016; Banjerdpongchai et al., 2016; Baranowska et al., 2016; Chebrolu et al., 2016; Ledesma et al., 2016; Shen et al., 2013).

2.4.5.5 Flavonoles

Los flavonoles son un ubicuo conjunto de metabolitos secundarios que, entre todos los subgrupos de flavonoides, se considera uno de los más abundantes. Los flavonoles afectan diversos procesos celulares, sobretodo el transporte de la fitohormona auxina, por lo que participan en el control del desarrollo de los órganos de las plantas. Además de sus funciones típicas de los flavonoides, como potencial antioxidante y protección contra la radiación ultravioleta, presentan capacidad anti-inflamatoria y anti-proliferativa, también se caracterizan por aportar color, textura y sabor a los alimentos en los que se encuentran. Sus principales fuentes dietéticas son las manzanas (*Malus* sp.), brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), arándanos (*Vaccinium macrocarpon*) y cebollas (*Allium cepa* L.). (Guo et al., 2016; Kuhn et al., 2016; Liu et al., 2016; Rybarczyk-Plonska et al., 2016; Smith et al., 2016; Wang et al., 2016)

2.4.5.6 Isoflavonas

Este tipo de compuestos flavonoides se caracteriza estructuralmente por la posición del anillo B en posición C3. Otra peculiaridad de las isoflavonas es que su sistema de anillos es similar a la de los esteroides, lo cual hace posible que estas sustancias se unan a receptores de estrógenos, por ello algunas isoflavonas poseen efectos antiestrogénicos. Utilizando este mecanismo de defensa, las plantas ricas en isoflavonas pueden llegar a provocar infertilidad a los animales que las consuman. También presentan actividad insecticida y antimicrobiana. Las isoflavonas más estudiadas son la genisteína, daidzeína y gliciteína. Los alimentos en los que frecuentemente se hallan las isoflavonas pertenecen a la familia de las leguminosas y fabáceas (*Leguminosae* y *Fabaceae*), como los frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.), chícharos (*Pisum sativum* L.) garbanzos (*Cicer arietinum*), soya (*Glycine max*), habas (*Vicia faba*), lentejas (*Lens culinaris*), entre otros (Megías et al., 2016; Šibul et al., 2016; Taiz et al., 2006; Yatsu et al., 2016).

2.5 Métodos de análisis de compuestos fenólicos totales

Dada la diversidad estructural de los compuestos fenólicos, éstos fitoquímicos presentan propiedades fisicoquímicas muy distintas, provocando que su extracción, separación, identificación y análisis se conviertan en un reto. Esta tarea se dificulta aún más dependiendo de los patrones de glicosilación y polimerización que se presentan en distintas matrices alimentarias. No existe un protocolo general para analizar a los compuestos fenólicos, sin embargo hay ciertas consideraciones que pueden ayudar a su análisis (Stalikas et al., 2007; Tsao et al., 2010).

- Conservación de las muestras: las muestras de plantas o alimentos deben preservarse debidamente para minimizar la pérdida de los compuestos de interés. Durante la transportación es importante evitar la degradación, por ello normalmente se utilizan métodos de secado, congelación o liofilización antes de la extracción puesto que el agua contenida en la muestra propicia la actividad enzimática. Por otro lado, la exposición a las altas

temperaturas, luz y oxígeno pueden afectar la composición de los compuestos fenólicos, es por eso que tales variables deben evitarse en la medida de lo posible (Tsao et al., 2010).

- Extracción: el método de extracción dependerá del tipo de muestra; debido a la naturaleza hidrofílica de los compuestos fenólicos por lo general se utiliza agua en combinación con solventes polares como metanol, etanol, acetonitrilo y acetona para llevar a cabo su extracción. En ocasiones es necesario llevar a cabo procesos de hidrólisis para obtener las fracciones de aglicona. Dependiendo de la metodología a seguir pueden emplearse técnicas de separación, por ejemplo las técnicas cromatográficas (Cartaya et al., 2001; Tsao et al., 2010).
- Análisis instrumental: se han desarrollado diversas estrategias basadas en la electroforesis capilar con detección electroquímica y diversos métodos cromatográficos. También se han desarrollado métodos espectrofotométricos, mediante los cuales es posible estimar el contenido total de compuestos fenólicos; si bien no es una técnica específica provee una vía simple y rápida para analizar estos metabolitos (Tsao et al., 2010).

2.5.1 Método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu

El método de Folin-Ciocalteu es un ensayo de transferencia de electrones que se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo Folin-Ciocalteu es una solución de ácido fosfomolibdico y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. Los compuestos fenólicos son oxidados a fenolatos por medio del reactivo Folin-Ciocalteu a pH alcalino en una solución de carbonato de sodio. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula. Por lo general se utiliza ácido gálico como

compuesto estándar. El tiempo de reacción puede variar desde 30 a 90 minutos, posterior a los cuales se lee la absorbancia de los calibrantes y de las muestras a 765 nm. Los resultados se expresan en equivalentes del compuesto de referencia por gramo de muestra fresca o seca (Bertelli et al., 2015; Danilewicz et al., 2015; Julkunen-Tiito et al., 1985; Peñarrieta et al., 2007; Peterson et al., 1979).

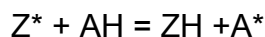
2.5.2 Medición de la capacidad antioxidante

La presencia de numerosos grupos -OH le confiere a estos compuestos su capacidad antioxidante. Por lo tanto es importante conocer el contenido de antioxidantes en los alimentos para la prevención del daño oxidativo, pues éste a su vez puede provocar cambios deletéreos o la pérdida de su valor nutricional. A tal efecto se requiere un método rápido capaz de determinar la capacidad antioxidante en matrices alimentarias (Foti et al., 2016; Kedare et al., 2011).

2.5.2.1 Método del radical DPPH

El método del radical DPPH fue desarrollado en 1958. La fórmula del reactivo DPPH es $C_{18}H_{12}N_5O_6$, el electrón impar del átomo de nitrógeno está estabilizado por resonancia y puede ser reducido recibiendo un átomo de hidrógeno proveniente de un antioxidante. El ensayo se basa en medir la capacidad que poseen los antioxidantes (presentes en la muestra problema) para estabilizarlo (Blois et al., 1958).

El reactivo DPPH es un radical estable de color púrpura intenso. Cuando se mezcla con otros radicales, electrones, o átomos de hidrógeno conduce a una pérdida de color a 515 nm. Este reactivo es de naturaleza hidrófoba de modo que sus reacciones se deben ejecutar en disolventes orgánicos. Representando el radical DPPH como Z^* y al antioxidante donador del átomo de hidrógeno como AH, la reacción principal es:



Donde:

ZH es la forma reducida

A* es un radical libre, producto de la reacción

La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por los antioxidantes de la muestra a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = (A - A_1) / A * 100$$

Donde:

A= Absorbancia del blanco

A₁= Absorbancia de la muestra

(Kedare et al., 2011; Romero et al., 2004)

Otra forma de realizar la interpretación de los resultados es construyendo una curva de calibración tomando como compuesto de referencia el reactivo 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) (Albishi et al., 2013).

2.6 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier

La espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR, siglas derivadas de su nombre en inglés “Fourier Transformed Infrared”), una técnica precisa, rápida, reproducible y de bajo costo para determinar grupos funcionales y compuestos con diversas polaridades, requiriendo de mínimos procesamiento de muestra, estos beneficios han contribuido a que esta técnica sea una herramienta útil en el establecimiento de huellas dactilares espectroscópicas de especies vegetales (Álvarez-Sánchez et al., 2013; Baciú et al., 2013).

Cuando una muestra es caracterizada mediante FT-IR, los grupos funcionales presentes en la muestra absorben la radiación infrarroja y los enlaces químicos vibran (esto provocado por flexiones o estiramientos de los propios enlaces), éste fenómeno traducido a señales sobre los números de onda en el

espectro de infrarrojo aporta información de uno o más componentes químicos en un analito (Lu et al., 2011; Khairudin et al., 2013).

Estas características son muy útiles en la industria e investigación de alimentos con potencial nutracéutico pues se requieren nuevas técnicas analíticas que proporcionen un análisis rápido y preciso de sus componentes. Preferentemente que involucren una preparación de muestra relativamente sencilla al tiempo que se conserve una satisfactoria precisión y sensibilidad de los resultados (Lu et al., 2011).

Con el desarrollo de la FT-IR en conjunto con la Reflectancia Total Atenuada (RTA), el uso de la espectroscopía de infrarrojo se ha incrementado significativamente y la preparación de la muestra ha llegado a ser cada vez menos compleja (Hu et al., 2016).

2.6.1 Algoritmos quimiométricos

La quimiometría se ha definido como una disciplina de la química que utiliza métodos estadísticos y matemáticos para el diseño o selección de procedimientos óptimos y experimentos que provean la máxima cantidad de información química mediante el análisis de los datos obtenidos. En otras palabras, el enfoque básico de la quimiometría es la extracción de información relevante de datos químicos mediante herramientas matemáticas y estadísticas (Miller, 2002; Varmuza et al., 2016)

Los análisis de estadística multivariante, entre los que se incluyen el análisis de componentes principales (ACP), análisis por conglomerados y regresión por mínimos cuadrados parciales (RMCP) son utilizados comúnmente dentro de las técnicas quimiométricas para construir modelos de clasificación (Miller, 2002).

Como resultado de la rapidez, precisión y menor destructividad de la muestra, la técnica de FT-IR se ha utilizado ampliamente en conjunto con técnicas de quimiometría en la investigación en el área de alimentos, específicamente en temas como adulteración, contaminación bacteriana y análisis composicional; en este último rubro, ha sido utilizada para evaluar las características nutricionales de alimentos y el control de calidad mediante su producción (Hu et al., 2016; Álvarez-Sánchez et al., 2013).

Existen reportes de modelos quimiométricos basados en datos espectroscópicos de plantas que han sido validados. Tales modelos pueden ser empleados para la predicción de diferentes actividades biológicas (Lu et al., 2011).

El ACP es una técnica quimiométrica empleada en la búsqueda de reconocimiento de patrones obtenidos a partir de datos químicos. Esta técnica ayuda a reducir el enfoque de nuestra atención a las principales variables y tendencias naturales en las muestras. De manera que la información sobre las muestras contenidas en las variables originales se proyecta sobre un menor número de nuevas variables llamadas componentes principales (Rodríguez-Galdón et al., 2010).

El análisis de RMCP se diferencia del ACP en que las nuevas variables ortogonales no solo se calculan a partir de la matriz de datos espectrales (valores “x”), sino que considera también la matriz de los datos de referencia (valores “y”). De este modo, las nuevas variables (llamadas ahora variables latentes) maximizan la varianza explicada de la matriz espectral (X) de forma que sea relevante para predecir los parámetros de la matriz con los datos de referencia (Y) (Alfaro et al., 2016).

En la presente investigación se busca profundizar en la obtención un patrón de reconocimiento mediante técnicas quimiométricas, utilizando el perfil

espectroscópico de infrarrojo medio de diferentes variedades de cebolla para predecir su contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

III. JUSTIFICACIÓN

Existe evidencia científica de que la cebolla, un vegetal básico en la alimentación de muchos países, representa una fuente natural de fitoquímicos con actividad antioxidante, como los compuestos fenólicos.

Debido a que a nivel local las variedades de cebolla con mayor disponibilidad comercial para la población son la amarilla, blanca, cambray y morada, su contenido de compuestos fenólicos puede variar dependiendo de sus características genotípicas y condiciones de cultivo. El estudio de tales compuestos y de su capacidad antioxidante podría ser un recurso útil para el establecimiento de recomendaciones dietéticas que impacten en el comportamiento de la población en torno al consumo de este alimento. Asimismo el conocimiento generado puede ser empleado en futuras investigaciones en las que se busque el desarrollo y adaptación de productos con valor agregado derivado de los componentes de este alimento.

A tal efecto es conveniente la búsqueda de un procesamiento sencillo de muestra para someterla al análisis preciso y rápido de una técnica analítica como la espectroscopía de infrarrojo, con la finalidad de obtener un perfil de reconocimiento a partir de los datos espectrales de este alimento, lo cual es importante para el entendimiento y comprensión de su composición química.

El uso de la información espectral recabada puede ser posteriormente utilizada para llevar a cabo la construcción de un modelado quimiométrico con la capacidad de predecir una aproximación del contenido de compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante de cada variedad de cebolla a partir de sus perfiles espectroscópicos, mediante la aplicación de técnicas estadísticas multivariantes.

La presente investigación buscó profundizar en la obtención de la huella dactilar de diferentes variedades de cebolla, utilizando su perfil espectroscópico de infrarrojo medio para predecir su contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

IV. HIPÓTESIS

H₀: El perfil espectroscópico de la cebolla (*Allium cepa* L.), obtenido por infrarrojo medio, se correlaciona con su capacidad antioxidante y su contenido fenólico total.

H_A: El perfil espectroscópico de la cebolla (*Allium species*), obtenido por infrarrojo medio, no se correlaciona con su capacidad antioxidante ni con su contenido fenólico total.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de 4 variedades de cebolla (*Allium cepa* L.) y correlacionarlo con su perfil espectroscópico de infrarrojo medio.

5.2 Objetivos específicos

1. Estandarizar la técnica de extracción de las variedades de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada.
2. Estandarizar la técnica para obtener el perfil espectroscópico de las muestras.
3. Determinar el contenido de compuestos fenólicos totales de las variedades de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada.
4. Evaluar la capacidad antioxidante de las variedades de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada.
5. Evaluar la correlación entre la capacidad antioxidante y contenido fenólico total con los perfiles espectroscópicos de las variedades de cebolla por medio de técnicas quimiométricas.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

a) Diseño del estudio

Experimental, descriptivo, analítico y transversal.

b) Población de estudio (Productos de origen vegetal)

Variedades de la especie vegetal de *Allium cepa* L. que se expenden en diferentes puntos de venta del área metropolitana, específicamente cebolla amarilla, blanca, cambray y morada.

c) Variables de estudio:

| Variables | Nivel de medición |
|--|---|
| Contenido de compuestos fenólicos totales de las 4 variedades de <i>Allium cepa</i> L. | Microgramos equivalentes de quercetina por gramo de muestra ($\mu\text{g EQ g}^{-1}$) |
| Capacidad antioxidante de las 4 variedades de <i>Allium cepa</i> L. | Micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$) |
| Perfiles espectroscópicos | %Transmitancia/Absorbancia de las espectroscópicas características de compuestos de interés |

d) Instrumentos de recolección de información

Bitácora con resultados obtenidos

e) Procedimiento

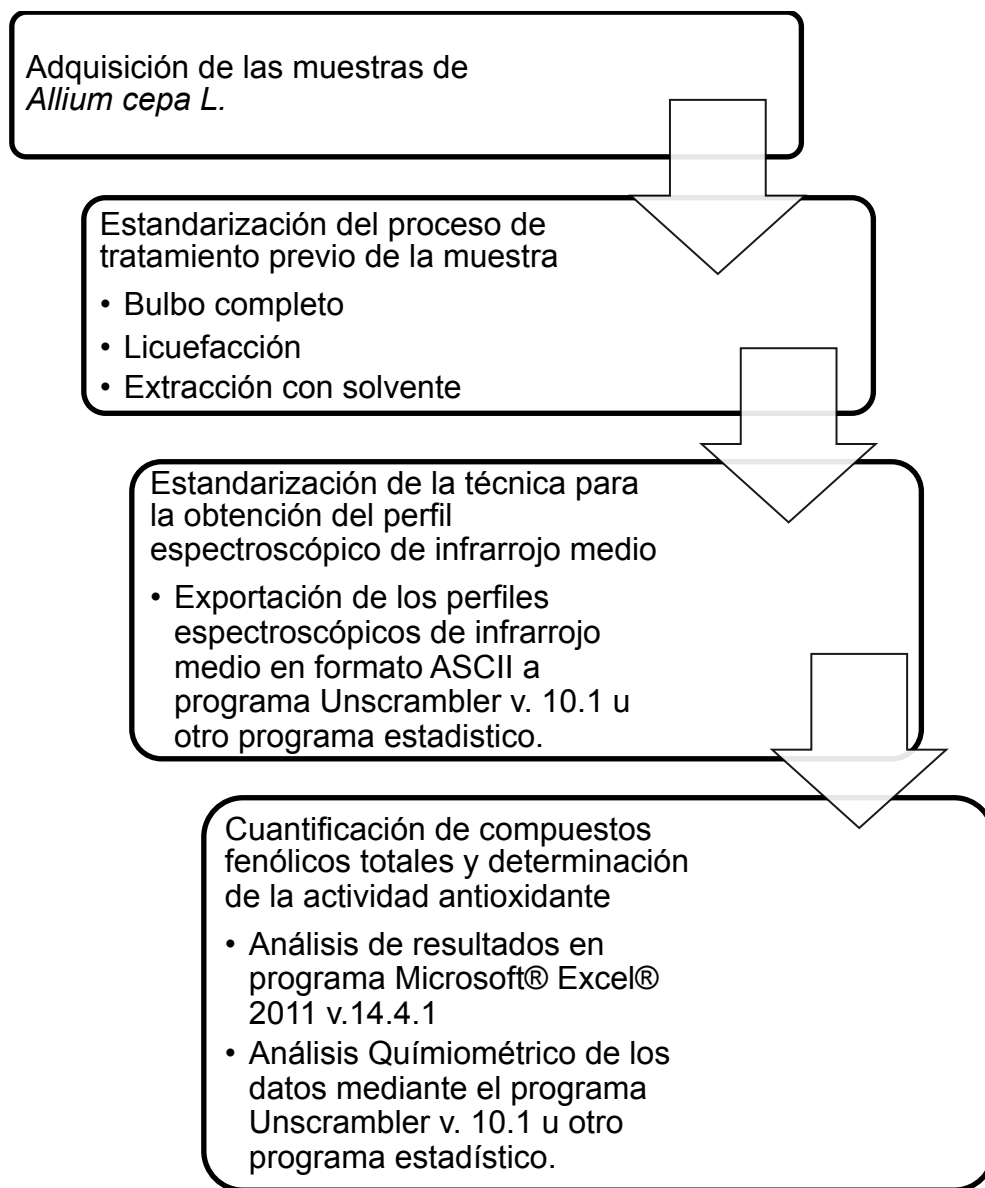


Figura 5. Diagrama de flujo de la metodología

6.1 Equipo, material y reactivos.

6.1.1 Equipo

- a) Balanza granataria (A&D Company Limited, modelo EJ-3000, Japón)
- b) Calibrador vernier digital (Titan, 23175, México)
- c) Refrigerador de 2°C a 6°C (Criotec, modelo CFX-13, México)

- d) Espectrofotómetro de ultravioleta visible (Barnstead Turner, SP-850 Plus, Taiwán)
- e) Extractor de uso doméstico (Taurus, modelo Ej-i, México)
- f) Licuadora de mano (Braun, modelo 4185, México)
- g) Balanza analítica (Ohaus Corp., modelo Pioneer, USA)
- h) Baño de ultrasonido (Branson, modelo 5800 series, USA)
- i) Centrífuga (Solbat, modelo J-40, México)
- j) Espectrofotómetro de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) (Shimadzu, modelo IrAffinity-1S, Japón)
- k) Accesorio de Reflectancia Total Atenuada (RTA) de diamante (Specac, modelo Quest, USA)
- l) Congelador de -24°C a - 18°C (Criotec, CTCC-10, México)

6.1.2 Material

- a) Cuchillos
- b) Cajas de petri
- c) Vasos de precipitados
- d) Frascos de vidrio con tapa
- e) Tubos de ensayo de 13X100 mm
- f) Pipetas Pasteur
- g) Papel Parafilm
- h) Papel aluminio
- i) Papel Whatman No. 541
- j) Embudos cónicos de 65 mm de diámetro de tallo corto (Kimax®, 65°, México)
- k) Jeringas estériles de 5 mL (Terumo, México)
- l) Membranas de de nylon hidrófilas con un tamaño de poro de 0.45 µm (Millipore, HNWP, USA).
- m) Viales de vidrio ámbar con tapón de rosca

6.1.3 Reactivos

A continuación se detalla un listado de los reactivos utilizados en la elaboración de esta investigación, los cuales fueron adquiridos de Reactivos y Equipos¹, México, CTR Scientific, México² y Sigma Aldrich Chemical Co., USA³.

- a) Etanol (EtOH) grado analítico marca Fermont¹
- b) Carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 7%²
- c) Estándar de quercetina (C₁₅H₁₀O₇) ≥95% (HPLC)³
- d) Folin Ciocalteu (2N)³
- e) 2, 2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)³
- f) Trolox (6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico)³

6.1.4 Material vegetal

6.1.4.1 Obtención de material vegetal para estandarización

Para la estandarización de la técnica de obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio se obtuvieron 10 bulbos de cada variedad de cebolla en estudio (amarilla, blanca, cambray y morada) de un proveedor de la Central de abastos de Monterrey, N.L., todos provenientes de un solo cultivar. Los bulbos de cebolla fueron almacenados a 4 °C protegidos de la luz hasta su análisis.

6.1.4.2 Obtención de material vegetal para análisis

Una vez estandarizada la técnica espectroscópica y los métodos para la determinación de las actividades biológicas en estudio se adquirieron variedades de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada, en diferentes puntos de venta de Monterrey, N.L. y su área metropolitana. Se seleccionaron 15 bulbos de cada variedad, descartando aquellos que presentaran visiblemente defectos por contaminación y/o golpes, así como exceso de raíces. Posteriormente se cuantificó su peso total utilizando una balanza granataria, asimismo se midieron el diámetro longitudinal y ecuatorial de cada bulbo utilizando un calibrador vernier. Los datos de peso y diámetros se almacenaron en una base de datos utilizando el programa Microsoft® Excel® 2011 v.14.4.1. Los bulbos de cebolla fueron almacenados a 4 °C protegidos de la luz hasta su análisis.

6.2 Estandarización del proceso de tratamiento previo de la muestra

Se probaron diferentes procesamientos de muestra, el mejor proceso se seleccionó en base a la cantidad, intensidad y repetibilidad de las señales espectrales obtenidas.

6.2.1 Bulbo completo

Se seleccionó un bulbo de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada y se eligieron dos porciones de cada uno. Estas porciones se colocaron en cajas de petri previamente sanitizadas. Para cada variedad, una porción se seleccionó a partir de su sección interna mientras que la otra se colocó sobre su sección externa.

6.2.2 Licuefacción

Se eligió un bulbo de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada y se extrajo el jugo de cada una por licuefacción mediante un extractor de uso doméstico. Cada jugo se apartó en un vaso de precipitados previamente sanitizado para su inmediato análisis.

6.2.3 Extracción con solvente

Para los dos métodos de extracción se empleó como solvente etanol a diferentes concentraciones, empleando agitación mecánica y ultrasonido.

6.2.3.1 Método 1 (M1)

De acuerdo al método reportado por Henagan y cols (2014), de cada variedad de cebolla (blanca, amarilla, cambray y morada) se tomaron 3 bulbos, los cuales fueron molidos utilizando una licuadora de mano. Del material vegetal molido se pesaron 150.0 g en un vaso de precipitados utilizando una balanza analítica y se mezclaron con 10.00 mL de EtOH al 80%, la muestra se dejó en reposo en un frasco de vidrio con tapa y protegido de la luz por las siguientes 16 horas (se procuró que esta parte del procedimiento fuera durante la noche), posteriormente se sometió a un proceso de sonicación por 15 min procurando una temperatura de 25 a 27 ° C en un baño de ultrasonido y se centrifugó por 15 min a

4000 rpm en tubos de ensayo. El sobrenadante de cada tubo fue recuperado utilizando una pipeta Pasteur y se reservó en un tubo nuevo. Al final se obtuvieron 12 extractos (3 de cada variedad de cebolla), los cuales se resguardaron a temperatura de refrigeración, sellados con papel Parafilm y protegidos de la luz con papel aluminio (Henagan et al., 2014).

6.2.3.2 Método 2 (M2)

Se realizaron modificaciones al método propuesto por Lu y cols (2011). De cada variedad de cebolla (blanca, amarilla, cambray y morada) se eligieron 3 bulbos, los cuales fueron molidos utilizando una licuadora de mano. Del material vegetal molido se pesaron 5.0 g en un vaso de precipitados utilizando una balanza analítica y se mezclaron con 1.00 mL de EtOH absoluto, mismo que fungió como extractante, para someter por 60 min a sonicación. Cada extracto fue filtrado a través de papel Whatman No. 541 en un embudo vidrio, el filtrado se recuperó en un tubo de ensayo y fue pasado a través de una membrana de de nylon hidrófila con un tamaño de poro de 0.45 μm . Se obtuvieron 12 extractos (3 de cada variedad de cebolla), los cuales se resguardaron a temperatura de refrigeración, sellados con papel Parafilm y protegidos de la luz con papel aluminio (Lu et al., 2011).

6.2.4 Liofilización

De acuerdo al método propuesto por Lu y cols (2011), se realizaron pruebas con cebolla amarilla, a partir de 3 bulbos de esta variedad los cuales fueron molidos, se pesaron 200.0 g en un vaso de precipitados utilizando una balanza analítica y se sometieron a liofilización empleando un vacío de 0.22 mbar y una temperatura de -50°C . Una vez obtenido el material liofilizado, 2.0 g del mismo se mezclaron con 80.00 mL de EtOH al 80%. Cada extracto fue filtrado a través de papel Whatman No. 1 en un embudo de vidrio, el filtrado se recuperó en un tubo de ensayo y fue pasado a través de una membrana de nylon hidrófila con un tamaño de poro de 0.22 μm . Se obtuvieron 3 extractos (de cebolla amarilla), los cuales se resguardaron a temperatura de refrigeración, sellados con papel Parafilm y protegidos de la luz con papel aluminio (Lu et al., 2011).

6.3 Almacenamiento de las muestras

Todas las muestras fueron protegidas de la luz y se conservaron a -20°C para evitar su deterioro, durante un plazo no mayor a 7 días. Cada vial, y su respectivo tapón, fueron rotulados con un código específico para identificación de cada extracto.

6.4 Establecimiento de las condiciones de análisis instrumental (FTIR)

El establecimiento de las condiciones de análisis instrumental se llevó a cabo de manera simultánea a la estandarización del método de procesamiento de muestra. Para el análisis espectroscópico se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) y un accesorio de reflectancia total atenuada (RTA) de diamante, empleando la interfaz de LabSolutions IR. Se establecieron las condiciones de análisis instrumental probando cambios de las siguientes variables enlistadas a continuación:

- Rango de medición
- Cantidad de muestra y tiempo de evaporación
- Solventes de limpieza
- Espectro de fondo
- Velocidad de escaneo

6.4.1 Rango del medición.

Se probaron diferentes rangos de número de onda, dentro de la región de $5000\text{--}700\text{ cm}^{-1}$.

6.4.2 Cantidad de muestra y tiempo de evaporación

Para definir la cantidad de muestra y el tiempo de evaporación ideal se realizaron pruebas con volúmenes que iban de los 10 a 20 μL y tiempos de secado de 05 min con 45 seg a 06 min con 46 seg. Ésta combinación de variables se probó hasta obtener la creación de una película adherida al diamante del RTA que proporcionara las mejores respuestas espectroscópicas.

6.4.3 Limpieza del diamante del RTA

Para la selección del mejor solvente de limpieza, se probaron los siguientes: etanol, acetona y cloruro de metileno; fue elegido aquel que permitiera la limpieza óptima del sistema sin dejar residuos de fondo, con un tiempo de evaporación corto.

6.4.4 Espectro de fondo

Se realizaron diferentes pruebas para neutralizar las señales, en su caso, del aire, del agua y del solvente de extracción en el perfil espectroscópico.

6.4.5 Velocidad de escaneo

Con base en lo reportado por el fabricante y Lu y cols (2011) se probaron dos velocidades de escaneo: 45 y 120 scans por minuto.

6.5 Obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio y determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

Bajo las condiciones previamente seleccionadas de procesamiento y almacenamiento, las muestras obtenidas en diferentes establecimientos de la zona metropolitana de N.L., fueron procesadas y los extractos fueron repartidos en tres alícuotas distintas para posteriormente ser analizados simultáneamente para la obtención del perfil espectroscópico por IR y determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

6.5.1 Obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio.

Bajo las condiciones instrumentales previamente seleccionadas, las muestras fueron analizadas para la obtención de los datos espectroscópicos por IR, para ser convertidos a formato ASCII y exportados al programa Unscrambler v.10.1 o similar para su posterior análisis.

6.5.2 Determinación de compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Coicalteu usando quercetina como compuesto estándar de referencia (la descripción del método se encuentra en el apartado

2.4.1). Se colocaron 100 μL de extracto etanólico en un tubo de ensayo, se agregaron 1300 μL de agua bidestilada y 100 μL de reactivo Folin-Ciocalteu. Posteriormente se agregaron 1000 μL de Na_2CO_3 al 7%. La solución se agitó manualmente por inversión y se llevó a oscuridad por 90 min, posteriormente se midió la absorbancia a 750 nm. La concentración se obtuvo usando la ecuación de regresión lineal de la curva de calibración establecida con quercetina en concentraciones de 0 a 8000 mg L^{-1} , el resultado se expresó en micro-gramos equivalentes de quercetina por gramo de muestra ($\mu\text{g EQ g}^{-1}$).

6.5.3 Determinación de la capacidad antioxidante

La actividad antioxidante fue determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil), el cual se realizó transfiriendo 200 μL de extracto etanólico a un tubo de ensayo y añadiendo 3300 μL de la solución de trabajo DPPH (1.2173×10^{-4} M en EtOH absoluto). La reacción se llevó a cabo durante 30 min en oscuridad y se midió la absorbancia de las muestras a 517 nm; se utilizó EtOH absoluto para el ajuste a cero y como control para la medición de la absorbancia inicial. El nivel de capacidad antioxidante fue establecido usando la ecuación de la recta de una curva de calibración de Trolox en concentraciones 0 a 2.5×10^6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ y los valores obtenidos se reportaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$).

6.6 Plan de análisis estadístico

Para evaluar la calidad analítica de los datos a utilizar en la correlación entre las actividades biológicas a partir de los perfiles espectroscópicos de las variedades de cebolla por medio de técnicas quimiométricas, se llevó a cabo el siguiente plan de análisis estadístico.

6.6.1 Datos espectroscópicos

Los datos obtenidos a partir de los perfiles espectroscópicos fueron registrados utilizando el software LabSolutions IR, una vez obtenidos fueron exportados en formato ASCII y JCAMP para después ser importados en entorno Unscrambler® v.10.1 y MATLAB®, respectivamente, para el análisis por ACP y RMCP. Se analizó la reproducibilidad de los datos espectrales y se calculó el

coeficiente de variación de los perfiles espectroscópicos de las cuatro variedades de cebolla, utilizando el programa Microsoft Excel® 2011 v.14.4.1.

6.6.2 Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante

La determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de cada uno de los extractos se realizó por triplicado. Para cada una de las variables de medición se calcularon la media, desviación estándar y un análisis de varianza y en caso de efectos significativos se realizó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico SPSS versión 22 (Armonk, EUA, IBM Corp.).

6.6.3 Correlación entre capacidad antioxidante y perfil espectroscópico

Como una primera aproximación sobre la naturaleza de los datos registrados, previo a la correlación mediante RMCP, se construyó un modelo basado en el Análisis de Componentes Principales (ACP). Para ello la matriz de datos fue preprocesada mediante diversos algoritmos matemáticos, como:

- Mínimos cuadrados generales ponderados (GLS W, siglas derivadas de su nombre en inglés “Generalized Least Squares Weighting”), es un filtro calculado a partir de las diferencias entre las muestras que de otro modo serían similares. Estas diferencias se consideran interferencias, de tal manera que este filtro reduce esta clase de desorden espectroscópico (CAMO, 2005).
- 1ª Derivada Stravinsky Golay, es un método de filtrado digital que permite el suavizado de los datos espectrales a la par de la disminución de la relación señal-ruido sin distorsionar considerablemente las señales originales (Bolaños et al., 2016; CAMO, 2005).
- Variación Normal Standard (SNV, siglas derivadas de su nombre en inglés “Standard Normal Variate”), es un método avanzado de preprocesamiento que trabaja sobre las hileras de la matriz de datos que permite la transformación de los espectros individuales mediante funciones de centrado

y escalado con el fin de disminuir la dispersión de los datos espectroscópicos (CAMO, 2005).

- Detrend, este método emplea un algoritmo sobre los datos para disminuir los efectos de variación creados por desplazamientos constantes, ya sea lineales o curvos, que proporcionen señales de fondo no deseadas. El “detrending” consiste en ajustar un polinomio de un orden dado a todo el perfil espectroscópico y restando dicho polinomio (Bolaños et al., 2016; CAMO, 2005).
- Corrección de la señal ortogonal (OSC, siglas derivadas de su nombre en inglés “Orthogonal Signal Correction”), es una función de filtrado que consiste en aplicar un algoritmo a los datos para eliminar la varianza en el bloque X que es ortogonal al bloque Y. Esta función identifica el primer componente del bloque X, después convierte estos valores en puntuaciones ortogonales al bloque Y, una vez que los “scores” han rotado, es posible aplicar un análisis de RMCP para predecir las puntuaciones ortogonales del bloque X (este análisis se describirá más adelante) (CAMO, 2005).
- Centrado en la Media (Mean Center), es uno de los preprocesamientos más utilizados, esta función consiste en calcular la media de cada columna de la matriz de datos y restar el valor obtenido a la columna. Después del centrado medio, cada fila de los datos centrados en la media solo incluye la diferencia de esa fila y media de la matriz de datos original (Bolaños et al., 2016; CAMO, 2005).

Los diferentes preprocesamientos probados para establecer el modelo del análisis por ACP se muestran en la figura 6.

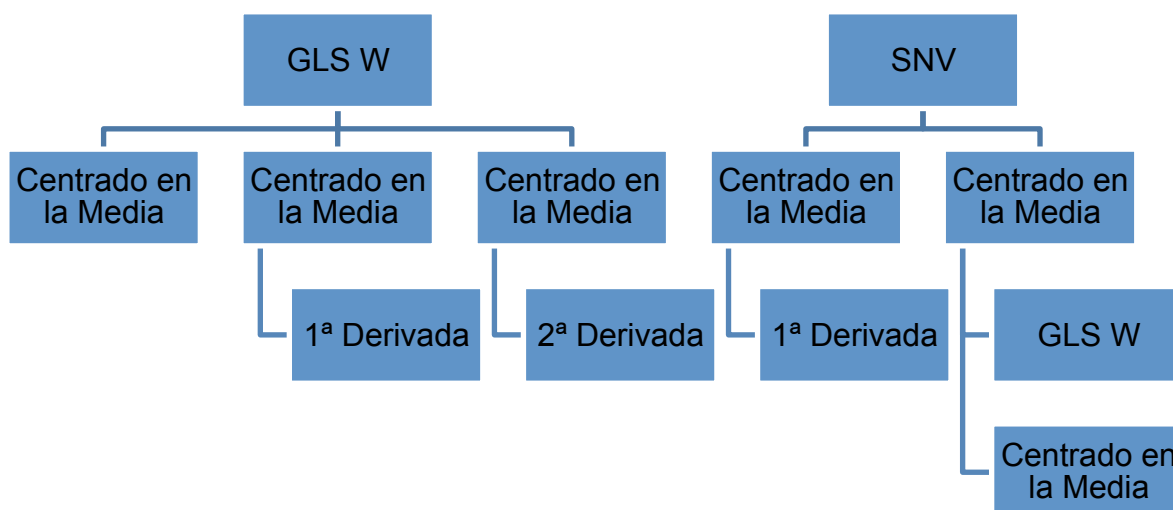


Fig. 6. Métodos de preprocesamiento probados para la obtención del análisis de ACP.

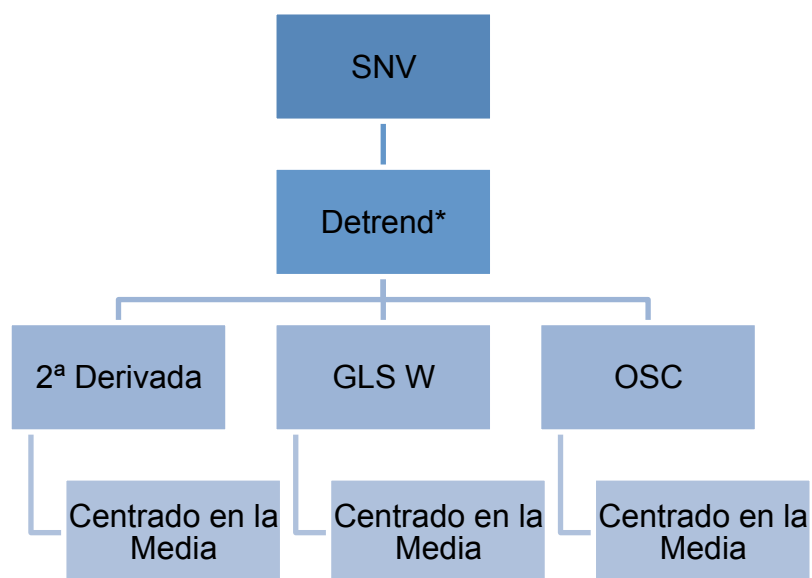
Los resultados del ACP fueron interpretados en función de sus scores, loadings y el porcentaje de varianza explicada alcanzado con los componentes principales retenidos.

Posteriormente, para estimar la predicción de los compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante a partir de los datos espectroscópicos, se realizó un análisis de RMCP (Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales). Para ello se incluyeron los datos del contenido de compuestos fenólicos totales y de la capacidad antioxidante en nuevos vectores de datos para ser asociados a la matriz de datos espectroscópicos.

El bloque Y correspondiente al contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante fue preprocesado mediante autoescalado.

Para ambos modelos de RMCP se aplicó el método de validación cruzada de persianas venecianas con 10 separaciones y 3 muestras por separación.

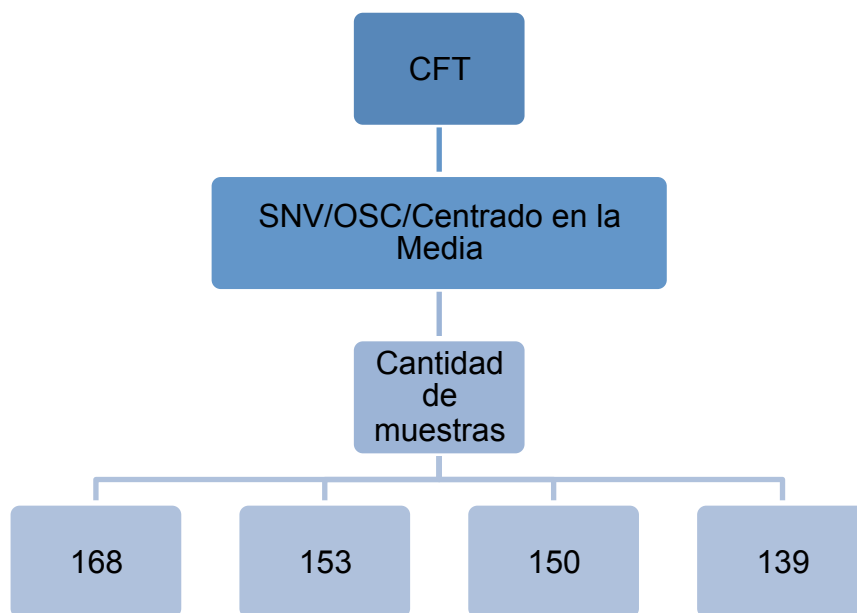
Asimismo, diferentes métodos de preprocesamiento fueron aplicados a los datos espectrales para lograr una mejor predicción del bloque Y (ver figura 7).



*Detrend se aplicó sólo para la predicción de capacidad antioxidante.

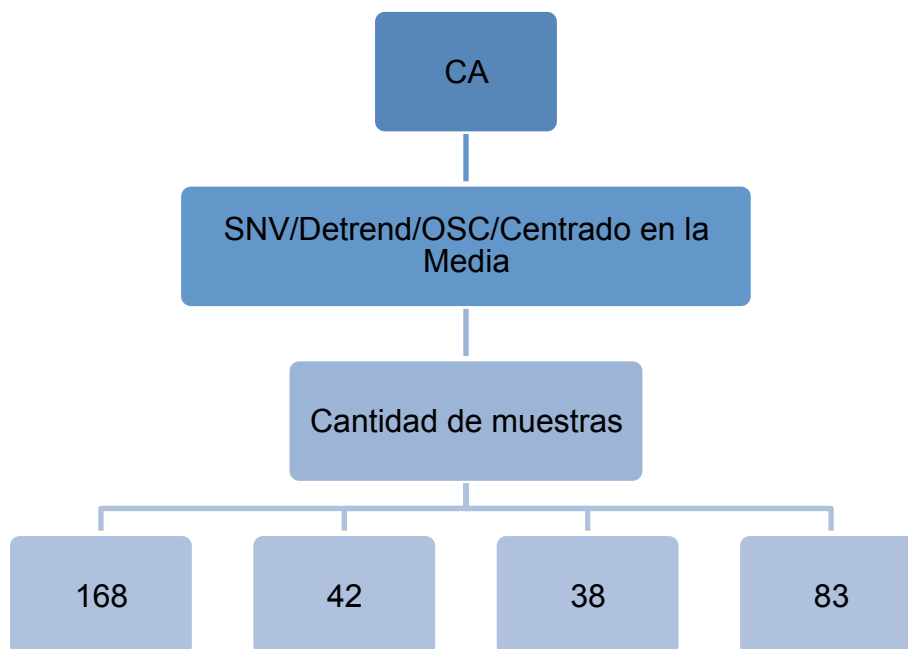
Fig.7. Métodos de preprocesamiento probados para la obtención del modelo de RMCP.

Aunado al preprocesamiento, se probaron distintos patrones de inclusión de muestras que lograran predecir con mayor efectividad las variables de contenido fenólico total y capacidad antioxidante (ver figuras 8 y 9).



CFT = Compuestos Fenólicos Totales

Fig.8. Pruebas de RMCP para la predicción de compuestos fenólicos totales.



CA= Capacidad Antioxidante

Fig.9. Pruebas de RMCP para la predicción de capacidad antioxidante.

VII. Resultados

7.1 Estandarización del proceso de tratamiento previo de la muestra

En la tabla II se muestra el número de señales que fueron obtenidas por los cuatro métodos de tratamiento previo de la muestra durante su registro espectroscópico.

| Tabla II. Número de señales e intervalo de intensidades | | | |
|---|-------------------------|-------------------|----------------------------|
| Método de tratamiento previo de muestra | Método de registro | Número de señales | Intervalo de intensidades* |
| Bulbo | Sección externa | 10 | 65-82 |
| Bulbo | Sección interna | 6 | 60-73 |
| Licuefacción | ^B Aire | 2 | 47-76 |
| Licuefacción | ^B Agua | - | - |
| Extracción con solvente (M1) | 20 µL | 10 | 20-75 |
| Extracción con solvente (M1) | 60 µL | 3 | 48-77 |
| Extracción con solvente (M1) | 20 µL ^B EtOH | 11 | 20-75 |
| Extracción con solvente (M2) | ^B Aire | 11 | 23-75 |
| Liofilización | ^B Aire | 11 | 25-85 |

*Resultados expresados en % de transmitancia

^B Blanco

Como se observa, con el método de extracción con solvente M2 se obtuvieron 11 señales con buena respuesta en términos de intensidad; por lo tanto este método fue elegido para realizar el procesamiento de muestra. El cual consistió en pesar 5.0 g de cebolla molida, agregar 1.00 mL de EtOH absoluto, sonicar por 60 min y filtrar mediante papel Whatman No. 541 y membrana de nylon de 0.45 µm.

Una vez obtenidos los perfiles espectroscópicos de cada variedad en estudio aplicando previamente el método de extracción con solvente M2, se

calculó el porcentaje de coeficiente de variación que para todos los casos fue menor de 1.61% (ver Tabla III).

| Tabla III. Coeficiente de variación de los perfiles espectroscópicos de las diferentes variedades de cebolla | |
|---|---------|
| Variedad | CV (%)* |
| Amarilla | 1.61 |
| Blanca | 0.71 |
| Cambray | 0.89 |
| Morada | 0.62 |

CV= Coeficiente de variación

*n = 3 réplicas.

En la figura 10 se observa el perfil espectroscópico obtenido de las cuatro variedades de cebolla (*Allium cepa* L.) en estudio, procesadas bajo el método seleccionado.

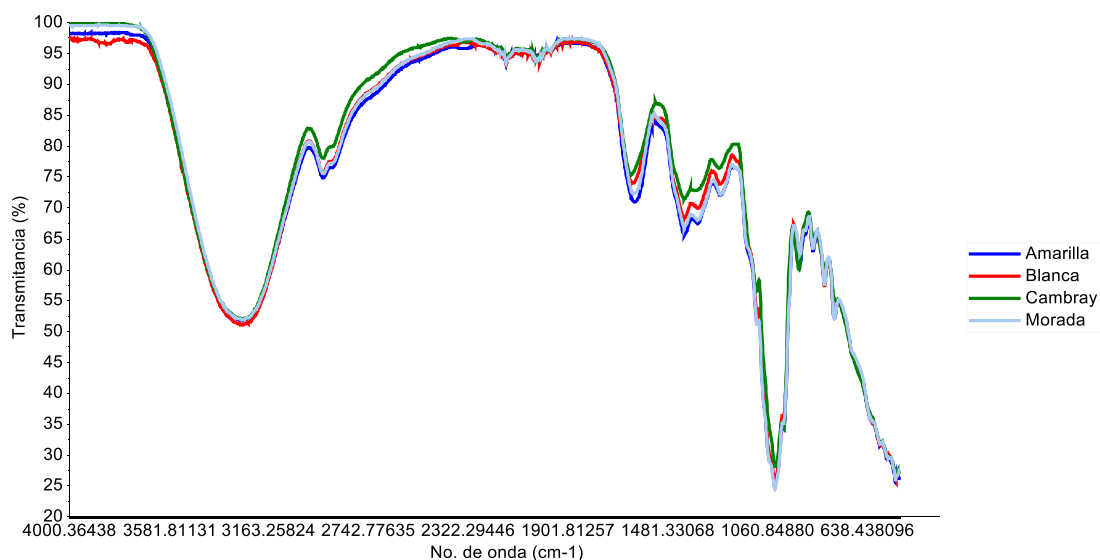


Fig. 10. Perfil espectroscópico de las distintas variedades de *Allium cepa* L.

De acuerdo con los hallazgos detectados, las bandas espectrales en la región de 1700 a 750 cm^{-1} . Las bandas espectrales obtenidas fueron similares a

las reportadas por Lu y cols (2011), quienes en su estudio observaron 12 bandas características del perfil espectroscópico de la cebolla blanca, amarilla, morada, cebolla dulce y shallot (ver figura 11 y tabla IV).

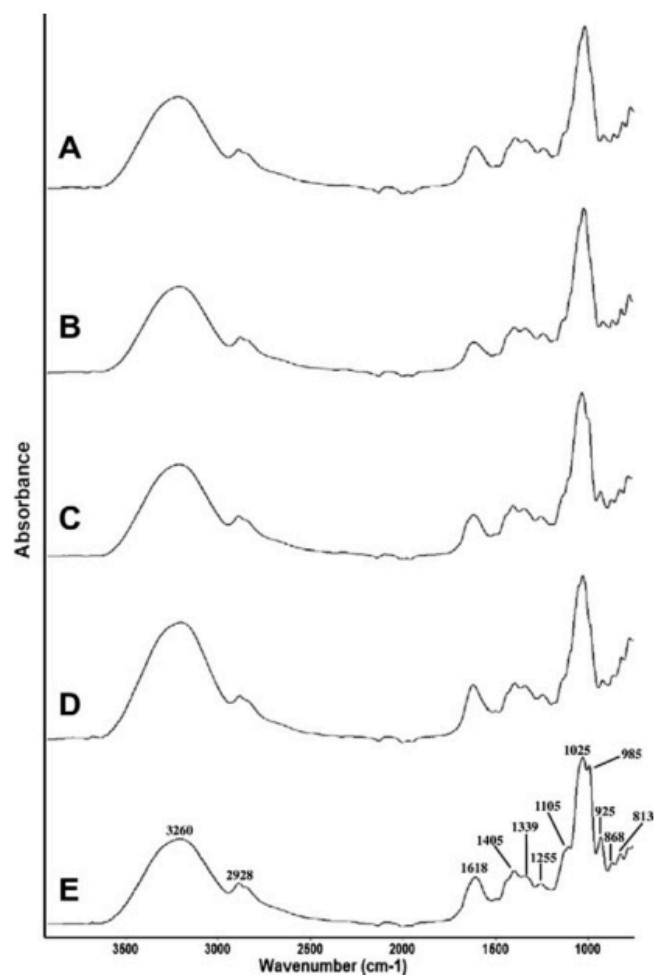


Fig. 11. Perfiles espectroscópicos de *Allium* species obtenidos por Lu y cols (2011).

| Tabla IV. Principales bandas distintivas del espectro de <i>Allium species</i> | | |
|---|--|---------------------------|
| No. de onda (cm ⁻¹) | Banda distintiva | Referencia |
| 1618 | Estiramiento del anillo C-C de grupos fenilo | (Schulz et al., 2007) |
| 1405 | Deformación asimétrica de CH ₃ | (Agarwal et al., 2006) |
| 1339 | Vibración del estiramiento C-O en combinación con el estiramiento de anillos de grupo fenilo | (Schulz et al., 2007) |
| 1255 | Amida de proteínas | (Chiriboga, et al., 1998) |
| 1200 y 950 | Grupos funcionales principalmente de carbohidratos | - |
| 1105 | Pico característico de carbohidratos | (Andrus, 2006) |
| 1025 | Frecuencia vibracional de CH ₂ OH | (Mordechai et al., 2001) |
| 985 | OCH ₃ de polisacáridos o celulosa | (Shetty et al., 2006) |
| 925 y 868 | Banda relacionada a DNA | (Dovbeshko et al., 2002) |
| 813 | Refleja información estructural de compuestos polifenoles | (Schulz et al., 2007) |
| 3260 | N-H estiramiento de proteínas O-H estiramiento de carbohidratos o agua | (Lu et al., 2010) |
| 2928 | CH ₂ estiramiento asimétrico de grupos metilo en lípidos | |

7.2 Establecimiento de las condiciones de análisis instrumental (FTIR)

Como se mencionó en metodología, el establecimiento de las condiciones instrumentales se llevó a cabo de manera simultánea con la estandarización del procesamiento de muestra. En la tabla V se muestra el conjunto de variables que fueron modificadas para establecer las condiciones de análisis instrumental.

| Tabla V. Variables modificadas en el establecimiento de condiciones de análisis instrumental | | | | | | |
|---|---------------------------------------|----------------------------------|--|---------------------|---------------------|-----------------------------|
| Tipo de muestra | Rango de medición (cm ⁻¹) | Velocidad de escaneo (scans/min) | Solvente de limpieza | Espectro de fondo | Cantidad de muestra | Tiempo de evaporación |
| Bulbo | 5000-700 | 45 | Acetona EtOH | Aire | 10 mg | NA |
| Licuefacción | 5000-500 | 45 | Acetona EtOH | Aire Agua | 60 µL * | NA |
| M1 | 4000-500 | 120 | Acetona EtOH Cloruro de Metileno | Aire EtOH al 80% | 60 µL 20 µL | 05:45 a 06:46 min:seg |
| M2 | 4000-500 | 120 | EtOH | Aire | 10 µL | 5 min |
| Liofilización | 4000-400 | 120 | EtOH | Aire | 20 µL | 5 min |

*Volumen aproximado

NA No aplica

Las mejores condiciones para la obtención de los perfiles espectroscópicos son las que se enlistan bajo el método de extracción con solvente M2, ya que fue el que proporcionó el mayor número de señales con buena intensidad y coeficientes de variación menores a 1.61%.

7.3 Obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio y determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

7.3.1 Material vegetal

Para la obtención de los datos espectroscópicos, la actividad biológica y el contenido total de compuestos fenólicos se adquirieron 15 muestras de cebolla de cada variedad en expendios comerciales del área metropolitana de Mty. Una muestra de variedad blanca y una de cambray no reunieron los criterios de selección, por lo que fueron eliminadas, a tal efecto se trabajó con 14 muestras de cada variedad, las características de las mismas se muestran en la tabla VI.

Tabla VI. Peso y diámetros del material vegetal

| Variedad | Peso (g) | Diámetro (mm) | |
|----------|--------------|---------------|------------|
| | | Longitudinal | Ecuatorial |
| Amarilla | 247.16±13.28 | 83.65±5.64 | 81.87±2.57 |
| Blanca | 342.26±41.32 | 88.64±9.43 | 87.93±4.79 |
| Cambray | 38.94±9.06 | 42.70±3.70 | 40.28±4.03 |
| Morada | 220.39±31.03 | 71.83±5.67 | 79.52±4.45 |

7.3.2 Obtención del perfil espectroscópico

Las características de los perfiles espectroscópicos obtenidos se muestran en la figura 10. Durante la fase metodológica de este estudio se recolectaron 168 perfiles espectroscópicos (42 de cada variedad). Las regiones de 4000 a 3655, 2443 a 1699 y 750 a 499 cm^{-1} fueron eliminadas puesto que correspondían a ruido espectral que incidía de manera negativa en el análisis de los datos.

Con los datos espectroscópicos se construyó un análisis multivariante empleando un modelo quimiométrico basado en el Análisis de Componentes Principales (ACP), en la figura 12 se muestran los resultados de los distintos preprocesamientos empleados sobre los datos.

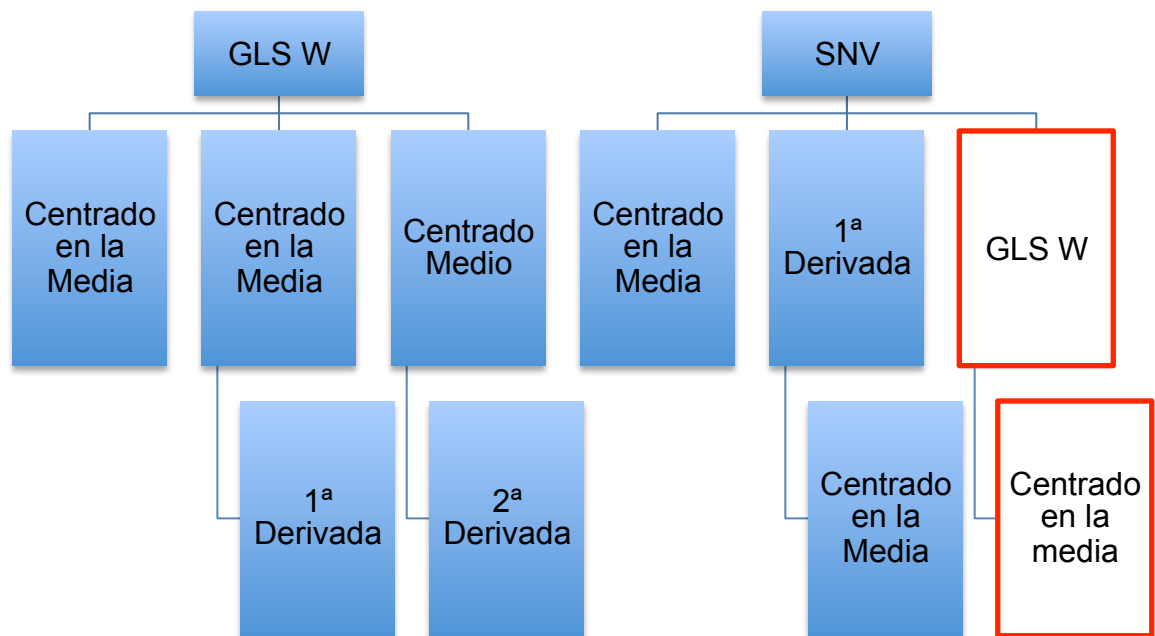


Fig. 12. Preprocesamientos probados para la obtención del análisis de ACP.

La matriz de datos fue preprocesada mediante SNV, GLS Weighting con un valor α de 0.02 y Centrado en la Media (ver figura 12). Asimismo se utilizó un modelo de validación cruzada de persianas venecianas con 10 separaciones y 1 muestra por separación. Se construyó un modelo con 3 componentes principales cuyo valor de ECMVC (Error Cuadrático Medio de Validación Cruzada) fue de 0.00285625, explicando el 64.39% de la varianza obtenida (ver figuras 13 y 14).

Se observó que el componente principal 1 (CP1) logró separar a las variedades amarilla y morada de las cambray y blanca. Por otro lado el componente principal 2 (CP2) logró separar a las variedades amarilla y blanca de las morada y cambray, de esta manera, se presentó una tendencia por parte de cada variedad para situarse en un cuadrante definido (ver figura 13 y 14).

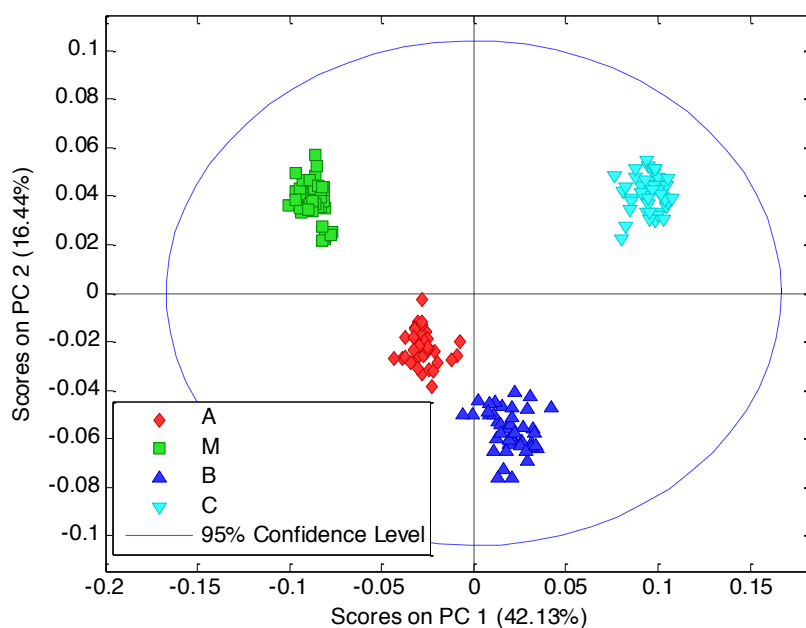


Fig. 13. ACP del perfil espectroscopico de *Allium Species*.

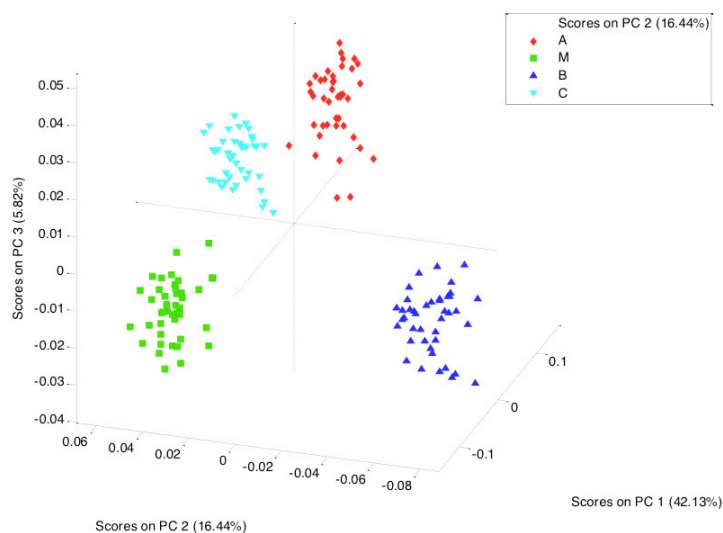


Fig. 14. Varianza explicada de los scores de ACP en vista tridimensional.

De acuerdo a la gráfica de loadings, la región de 1700 a 750 cm^{-1} en el perfil espectroscópico fue la que mejor describió diferencias entre los espectros de las diferentes variedades (ver figura 15).

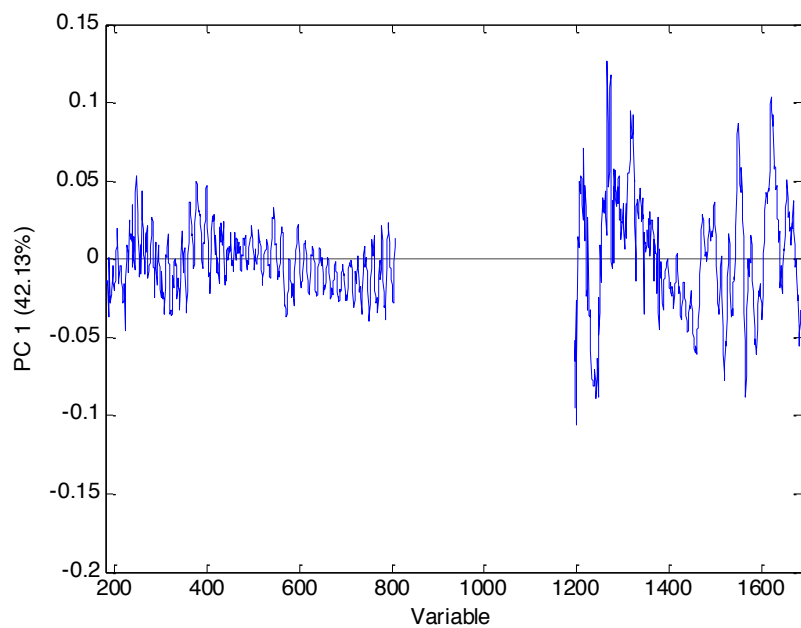


Fig. 15. Gráfica de loadings del perfil espectroscopico de *Allium Spp.*

7.3.3 Determinación de compuestos fenólicos totales

Se obtuvo la curva de calibración con quercetina como compuesto estándar, con un coeficiente de correlación de 0.99551 (ver figura 16).

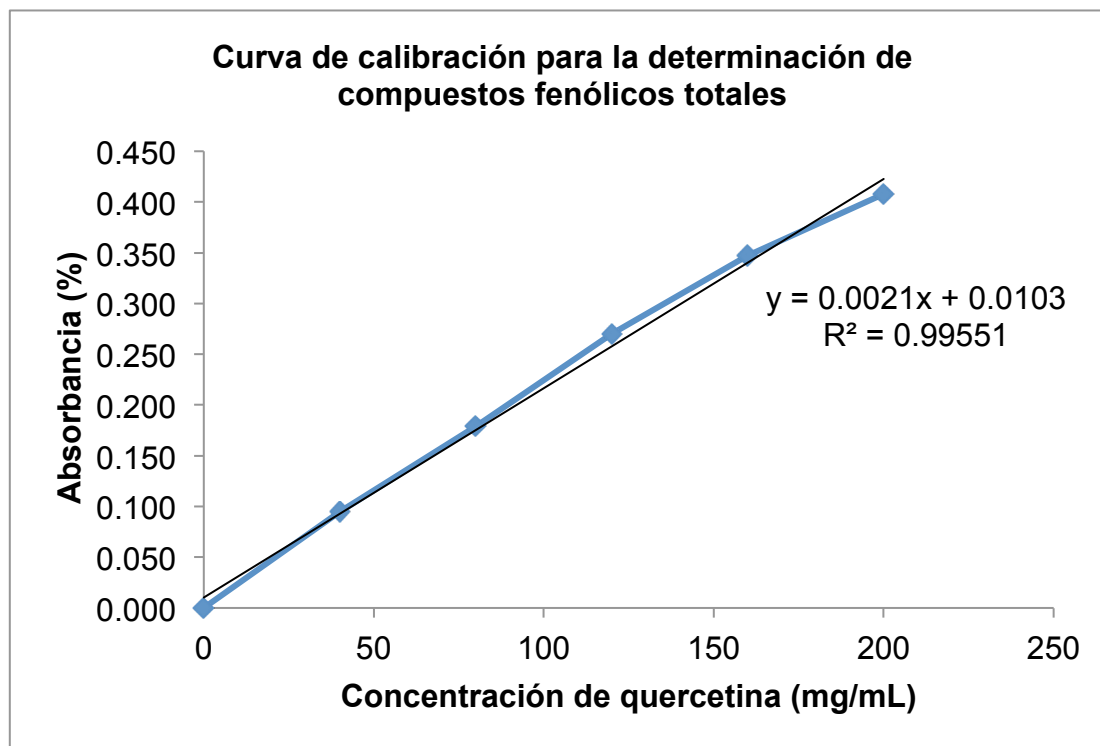


Fig. 16. Curva de calibración para la determinación de compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales de cada extracto fue expresado en “Microgramos equivalentes de quercetina por gramo de muestra ($\mu\text{g EQ g}^{-1}$)” con base en la curva de calibración del material de referencia (quercetina).

El contenido de compuestos fenólicos totales de las cuatro variedades de estudio se muestra en la tabla VII.

Tabla VII. Contenido de compuestos fenólicos totales

| Variedad | Contenido de compuestos fenólicos totales* |
|----------------------------|---|
| Amarilla ^{c,d} | 571.03 ± 130.91 |
| Blanca ^{c,d} | 516.91 ± 89.60 |
| Cambray ^{a,b,c,d} | 294.50 ± 57.97 |
| Morada ^{a,b,c,d} | 1144.63 ± 266.50 |

a,b,c,d Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto a las variedades en estudio

* Concentración expresada en $\mu\text{g EQ g}^{-1}$

El valor medio del contenido de compuestos fenólicos totales fue mayor en la variedad morada ($1144.63 \pm 266.50 \mu\text{g EQ g}^{-1}$) con diferencia significativa comparado con los puntajes medios de las otras variedades, seguida de la variedad amarilla ($571.03 \pm 130.91 \mu\text{g EQ g}^{-1}$), blanca ($516.91 \pm 89.60 \mu\text{g EQ g}^{-1}$) y cambray ($294.50 \pm 57.97 \mu\text{g EQ g}^{-1}$). Para esta última variedad, su valor medio del contenido de compuestos fenólicos totales fue menor con diferencia significativa en comparación con las demás variedades en estudio (ver figura 17).

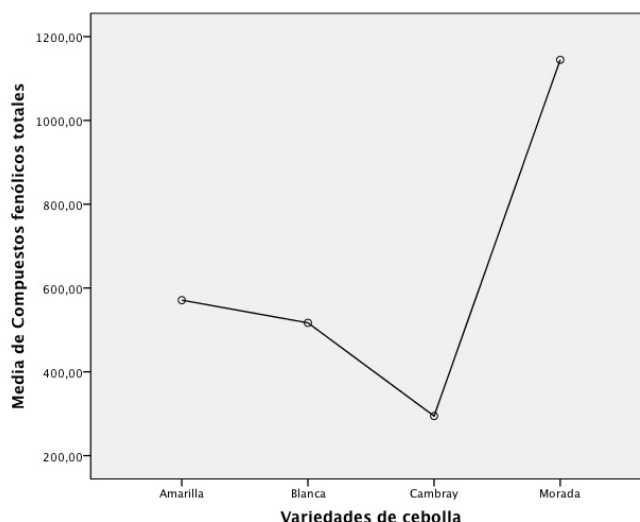


Fig. 17. Gráfica de comparación del puntaje medio de compuestos fenólicos totales

7.3.4 Determinación de la capacidad antioxidante

Se obtuvo la curva de calibración con Trolox como compuesto estándar, con un coeficiente de correlación de 0.99868. Los valores obtenidos se reportaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$) (ver figura 18).

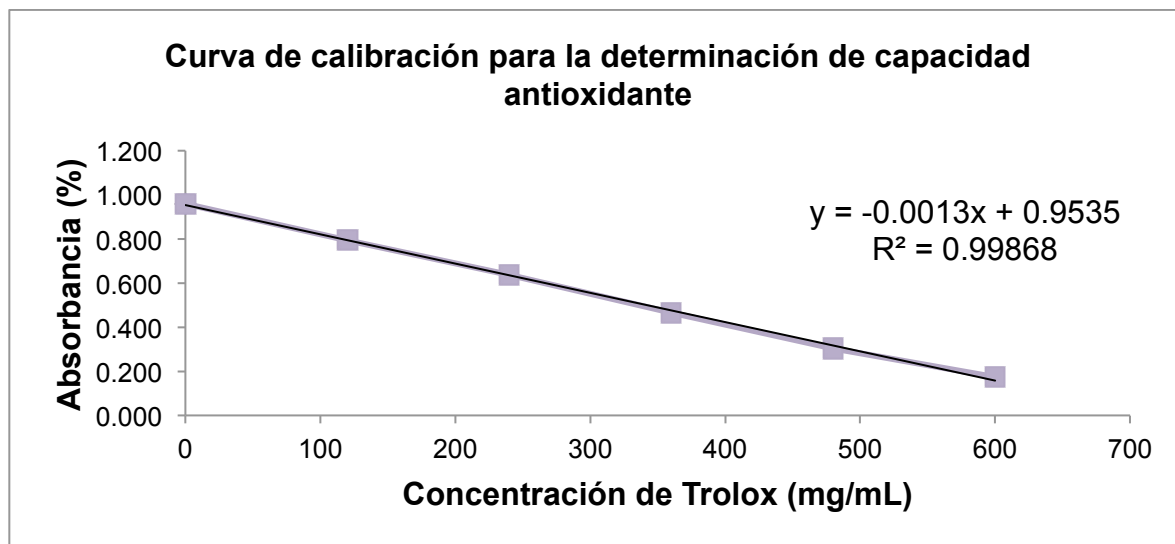


Fig. 18. Curva de calibración para la determinación de capacidad antioxidante

Los puntajes medios de capacidad antioxidante de cada variedad se muestran en la tabla VIII.

Tabla VIII. Capacidad antioxidante en extracto etanólico M2

| Variedad | Capacidad antioxidante* |
|----------------------------|-------------------------|
| Amarilla ^{c,d} | 607.14 ± 155.87 |
| Blanca ^{c,d} | 658.42 ± 129.30 |
| Cambray ^{a,b,c,d} | 421.06 ± 101.20 |
| Morada ^{a,b,c,d} | 1503.11 ± 296.78 |

n= Tres muestras independientes analizadas por triplicado

a,b,c,d Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto a las variedades en estudio

* Concentración expresada en $\mu\text{mol ET g}^{-1}$

El valor medio de capacidad antioxidante fue mayor en la variedad morada (1503.11 \pm 296.78 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$) con diferencia significativa comparado con los puntajes medios de las otras variedades, seguida de la variedad blanca (658.42 \pm 129.30 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$), amarilla (607.14 \pm 155.87 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$) y cambray (421.06 \pm 101.20 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$). Para esta última variedad, su valor medio del contenido de CFT fue menor con diferencia significativa en comparación con las demás variedades en estudio (ver figura 19).

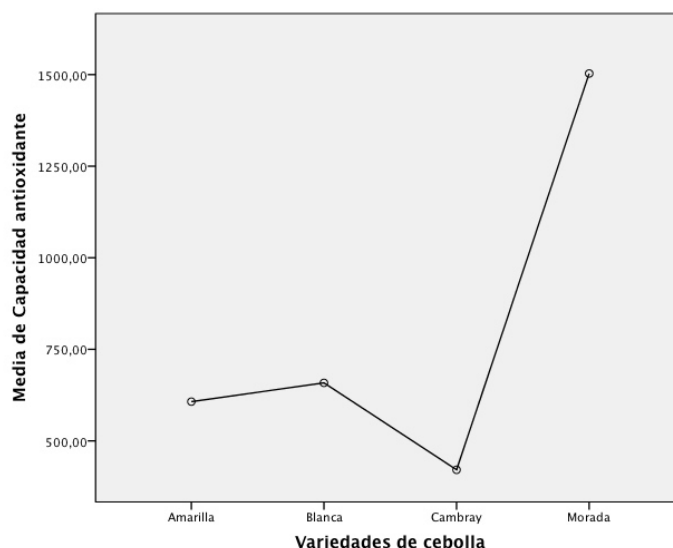
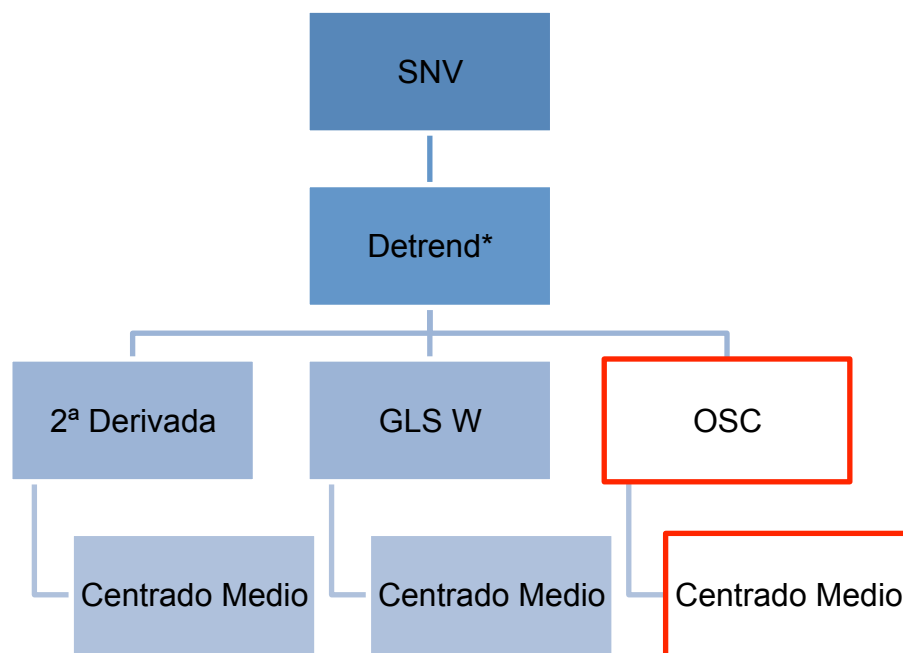


Fig. 19. Gráfica de comparación del puntaje medio de capacidad antioxidante

7.4 Correlación entre el perfil espectroscópico y el contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante

Al incluir todas las muestras, los diferentes preprocesamientos aplicados para la predicción de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante mostraron coeficientes de correlación > 0.60 y < 0.80 . De manera general, el esquema aplicado a los dos modelos de RMCP se muestra en la figura 20. El método elegido consistió en la transformación de la matriz de datos mediante SNV, Detrend (sólo en el caso de capacidad antioxidante), OSC y Centrado en la Media. Por ello fue necesario refinar el modelo buscando otros tratamientos matemáticos retirando las muestras con comportamiento anómalo.



*Detrend se aplicó solo para la predicción de capacidad antioxidante

Fig. 20. Coeficientes de correlación obtenidos para los diferentes preprocesamientos previos a la obtención de RMCP.

7.4.1 Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales para estimar la predicción de compuestos fenólicos totales

El bloque X de la matriz de datos espectroscópicos fue preprocesado mediante las funciones SNV, OSC y Mean Center, mientras que el bloque Y fue preprocesado mediante autoescalado (descritas en el apartado de metodología) (CAMO, 2005).

Como se observa en la figura 21, la inclusión de 139 muestras permitió una mejor predicción del contenido fenólico total a partir de los datos espectroscópicos.

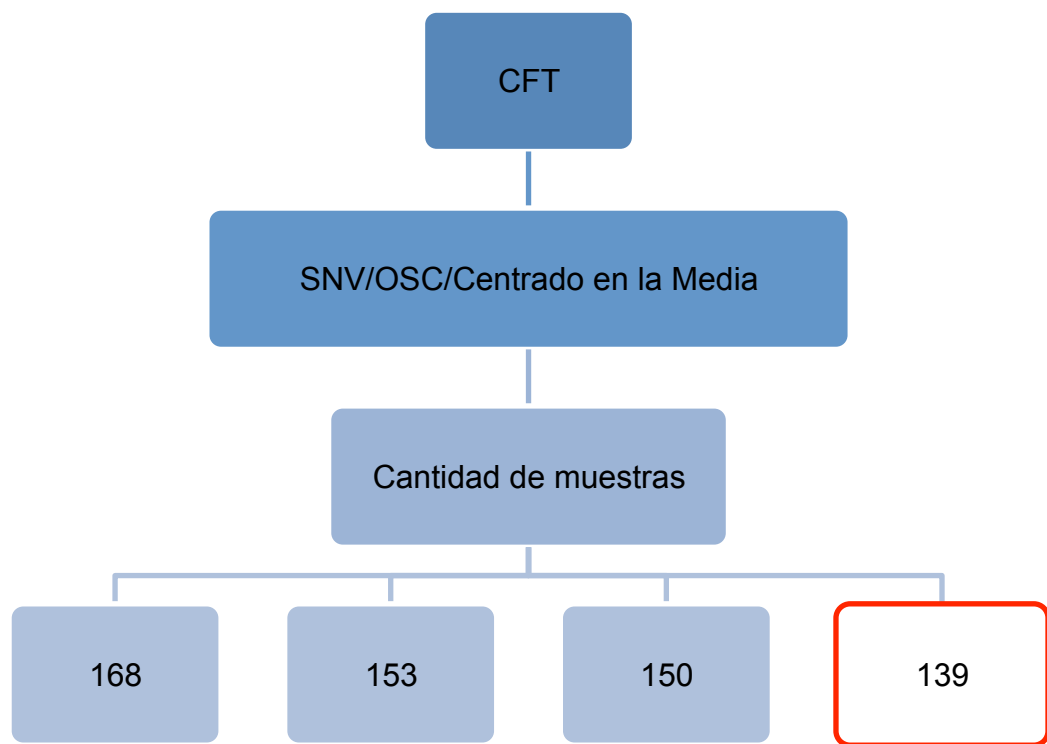


Fig. 21. Patrones de inclusión de muestras para la predicción de CFT mediante RMCP.

Tomando en cuenta el número de variables latentes obtenidas y los resultados de la validación cruzada, el mejor método de preprocesamiento se obtuvo a partir de los algoritmos quimiométricos SNV, OSC y Centrado en la Media. Incluyendo 139 muestras se obtuvo un modelo con 4 variables latentes con un error cuadrático medio de validación cruzada de 99.51. El coeficiente de correlación fue de 0.90 con una varianza explicada de 91.44 para el bloque X y 96.49 para el bloque Y (ver figura 22).

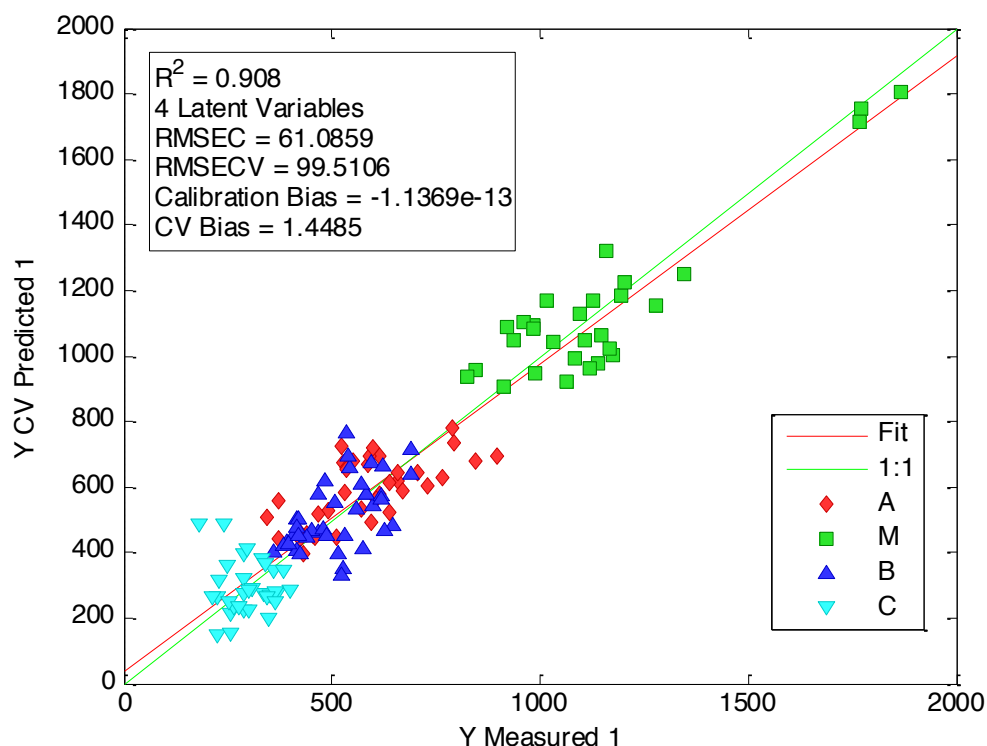


Fig.22. Modelo de análisis multivariante por RMCP de compuestos fenólicos totales a partir de datos espectroscópicos.

7.4.2 Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales para estimar la predicción de capacidad antioxidante

El bloque X de la matriz de datos espectroscópicos fue preprocesado mediante las funciones SNV, Detrend, OSC y Mean Center, mientras que el bloque Y fue preprocesado mediante autoescalado (descritas en el apartado de metodología) (CAMO, 2005).

La predicción de la capacidad antioxidante se estimó bajo distintos patrones de inclusión de muestra, los cuales se muestran en la figura 23.

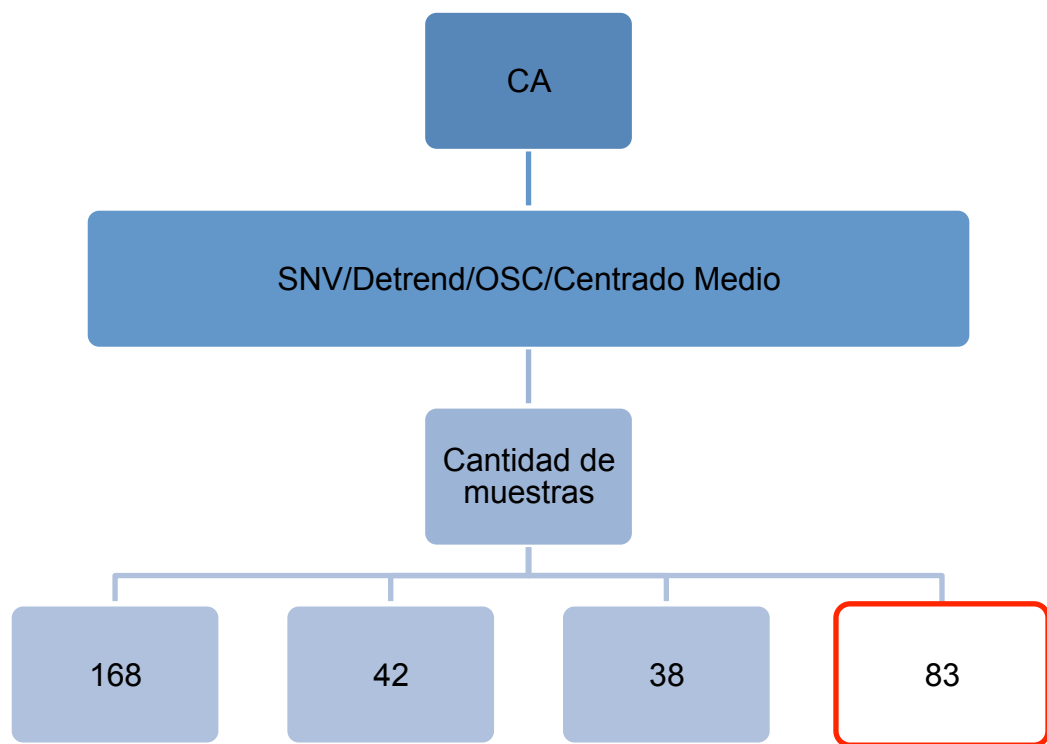


Fig. 23. Patrones de inclusión de muestras para la predicción de CA mediante RMCP

Tomando en cuenta el número de variables latentes obtenidas y los resultados de la validación cruzada, el mejor método de preprocesamiento se obtuvo a partir de los algoritmos quimiométricos SNV, Detrend, OSC y Centrado en la Media. Empleando 83 muestras se estableció un modelo con 3 variables latentes con un error cuadrático medio de validación cruzada de 112.81. El coeficiente de correlación fue de 0.95 con una varianza explicada de 78.80 para el bloque X y 98.70 para el bloque Y (ver figura 24).

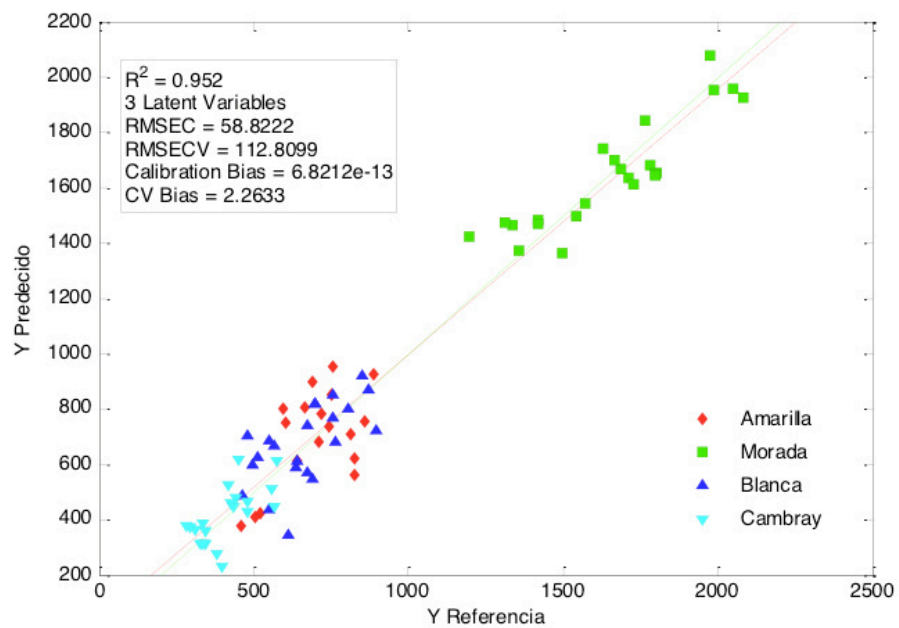


Fig. 24. Modelo de análisis multivariante por RMCP de capacidad antioxidante a partir de datos espectroscópicos.

VIII. DISCUSIÓN

8.1 Estandarización de la técnica para la obtención del perfil espectroscópico de *Allium cepa* L.

La estandarización del proceso de tratamiento previo de la muestra y de las condiciones de análisis instrumental se realizó de manera simultánea, el propósito principal de esta etapa del estudio fue disponer de un procedimiento asequible por medio del cual lograr el establecimiento del perfil espectroscópico de *Allium cepa* L.

Para registrar los perfiles espectroscópicos se precisó de la neutralización de las señales propias del diamante de RTA, aire, agua y/o solventes utilizados. Este proceso permitió eliminar el ruido espectral o la señal de fondo del solvente en su caso.

El método de extracción seleccionado (M2) mostró ventajas en cuanto a la obtención del perfil espectroscópico con respecto a los otros métodos de tratamiento previo de la muestra dado que mostró mejor resolución de los perfiles obtenidos utilizando menor cantidad de muestra y tiempo de evaporación.

La mayoría de las bandas espectrales obtenidas se encontraron en la región de 1800 a 750 cm^{-1} y se asemejaron a las reportadas por Lu y cols (2011), quienes emplearon material vegetal liofilizado para obtener el perfil espectroscópico de diferentes variedades de cebolla. Esta metodología de referencia también se probó en este estudio, sin embargo no fue considerada ya que requería mayor cantidad de muestra y tiempo de procesamiento.

8.2 Material vegetal

Los bulbos de cebolla colectados de variedades amarilla, blanca y morada tuvieron un diámetro ecuatorial mayor a 5.5 cm, mientras que en los bulbos colectados de cebolla cambray esta medida fue mayor a 4.0 cm. Estos resultados sugieren que las cebollas de variedades amarilla, blanca y morada correspondían a bulbos de primera, mientras que en el caso de la variedad cambray fueron de

segunda, según la clasificación anteriormente mencionada para los cultivos de *Allium cepa* L. (Medina et al., 2008).

Las diferentes variedades de cebolla son producto de variaciones en el genotipo de la especie, sin embargo, el ambiente y tratamientos pre- y post-cosecha pueden afectar la madurez y rendimiento de los bulbos, estos factores se reflejan fácilmente sobre las características como peso y diámetros de los cultivos (Mollavali et al., 2016).

8.3 Análisis de Componentes Principales

Los distintos preprocesamientos aplicados sobre los datos espectroscópicos fueron necesarios para disminuir los problemas asociados al ruido espectral, irregularidades de la línea base y centrado. Los mejores resultados surgieron después de aplicar el filtro SNV, ya que este permite la transformación completa de los perfiles espectroscópicos trabajando sobre todas las filas de la matriz de datos, permitiendo el centrado y escalado de los mismos; aunado a este filtro, el filtro GLW S, permitió eliminar las interferencias entre los perfiles espectroscópicos disminuyendo las zonas de desorden y catalogando los datos de acuerdo a sus distinciones únicas, por último la función de Centrado en la Media favoreció el ajuste de los valores de las columnas incluídas en la matriz de datos en torno a su valor medio.

Los resultados obtenidos permitieron la separación de cada variedad de cebolla en agrupaciones definidas, dentro de un intervalo de confianza del 95%. La región de 1697 a 752 cm^{-1} fue la de mayor relevancia para la separación de los grupos.

Las variedades morada y cambray formaron agrupaciones más definidas, mientras que las variedades blanca y amarilla, a pesar de que sus agrupaciones son visiblemente distintas, mostraron una tendencia a permanecer más unidas. Tal

comportamiento de las muestras reveló una asociación a las diferencias composicionales de cada una de las variedades.

8.4 Compuestos Fenólicos Totales y Capacidad Antioxidante

En el presente estudio, el extracto etanólico de cebolla morada presentó un contenido de compuestos fenólicos totales de $1144.63 \pm 266.50 \mu\text{g EQ g}^{-1}$ y capacidad antioxidante de $1503.11 \pm 296.78 \mu\text{mol ET g}^{-1}$.

En cuanto a reportes previos, López-Martínez y cols (2014) encontraron que el extracto etanólico de cebolla morada presentó la mayor concentración de compuestos fenólicos totales ($42.7 \text{ mg}/100 \text{ g}$) y la mayor capacidad antioxidante (89.2%) en comparación con las variedades blanca y amarilla. Abdel-Gawad y cols (2014) y Albishi y cols (2013) trabajaron con las mismas variedades de cebolla y también encontraron esta tendencia de contenido fenólico total y capacidad antioxidante mayor en fracciones de extracto de cebolla morada.

Albishi y cols (2013) argumentaron que en el caso de la cebolla morada, los compuestos fenólicos se presentaron en mayor proporción en forma de glucósidos (41.30%) que en su forma aglicona (38.41%). Asimismo que el contenido de compuestos fenólicos totales en la cebolla es menor una vez que comienza a germinar, dando como resultado una disminución de su contenido fenólico total en el bulbo y mayor contenido de compuestos fenólicos ligados en sus raíces.

Los extractos utilizados en esta tesis no fueron sometidos a procesos de hidrólisis, de manera que la cuantificación del contenido fenólico total probablemente se debió a la mayor disponibilidad de compuestos fenólicos.

Uno de los criterios de selección de los bulbos de cebolla que se utilizaron en este estudio fue la ausencia de raíces, sin embargo, dado que los bulbos fueron colectados de puntos de venta comercial y no se conocían sus condiciones de cultivo, es posible que el estado de maduración de las diferentes variedades de cebolla hayan influido los resultados encontrados.

Un estudio realizado por Nuutila y cols (2002) mostró que las hojas de cebolla presentan mayor capacidad antioxidante con respecto a otras especies del género *Allium*.

López-Martínez y cols (2014) sugieren que las diferencias observadas entre la capacidad antioxidante de las variedades de cebolla pueden ser debido a la naturaleza de los compuestos fenólicos presentes en cada una de ellas. La cebolla morada en particular, es rica en compuestos fenólicos como quercetina, kaempferol y antocianinas que han mostrado ser potentes antioxidantes, esto podría ser una explicación de sus valores de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante que muestran los extractos de esta variedad, en contraste con las variedades amarilla y blanca (Desjardins et al., 2008;).

8.5 Preprocesamiento de datos para los modelos de RMCP

En el presente estudio se establecieron distintos preprocesamientos a la matriz de datos espectroscópicos en combinación con los bloques Y, (compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante, según el caso) esto con la finalidad de aumentar la capacidad predictiva de los modelos construidos. Para asegurar la transformación de los datos espectroscópicos se disminuyeron las señales interferentes mediante el filtro SNV. Sólo en el caso del modelo de predicción de capacidad antioxidante fue necesario utilizar el detrending para ajustar la variabilidad que los datos espectroscópicos mostraban en su línea base. El filtro OSC, fue empleado para simplificar el modelo matemático construido ya que excluye la varianza del bloque X no relacionada con la predicción del bloque Y. Por último, para la centralización de los datos en torno al valor de su media se aplicó el Centrado Medio, esto con la finalidad de que los diferentes modelos sean comparables en términos de desviaciones estándar de su media (CAMO, 2005).

8.5.1 Correlación entre el perfil espectroscópico y el contenido de compuestos fenólicos totales

Los diferentes esquemas de inclusión de muestra fueron establecidos con la finalidad de obtener un modelo predictivo del contenido de compuestos fenólicos totales confiable a partir de los datos espectroscópicos.

A partir de las 168 muestras originales, se obtuvo un coeficiente de correlación <0.80 , dicho resultado no fue favorable para el cumplimiento del objetivo planteado; esto fue debido a una amplia variabilidad en los valores obtenidos en la predicción de algunas observaciones del bloque Y, que algunos casos mostraron porcentajes de error $>20\%$.

Cascant y cols (2016) mencionan que conjunto de datos incluídos en un modelo de calibración debe incluir las mejores muestras representativas asignadas en cuanto a su contenido fenólico basado en el espectro de infrarrojo para lograr establecer un buen modelo predictivo. Por esta situación fue necesaria la exclusión de algunas de los conjuntos de muestras que mostraban un comportamiento anómalo, esta serie de eliminaciones se realizó revisando cuidadosamente la variación en los perfiles espectroscópicos, la dispersión obtenida para los valores de compuestos fenólicos totales, el porcentaje de error resultante de cada conjunto de muestras y el coeficiente de correlación obtenido.

De esta manera, fueron 139 muestras las que cumplieron con las características necesarias para incrementar la confiabilidad del modelo requerido, las cuales aportaron resultados consistentes entre su valor de compuestos fenólicos totales obtenido con el valor predicho.

Dicho análisis de RMCP logró estimar una correlación entre los perfiles espectroscópicos y los valores de CFT con un valor de 0.90.

Los resultados obtenidos mostraron similitud con los resultados de ANOVA anteriormente mencionados, siendo la cebolla morada y cambray las de mayor y menor contenido fenólico, respectivamente. El contenido de compuestos fenólicos totales de las variedades amarilla y blanca fue muy similar, observándose nulas diferencias entre estas dos variedades cuyos valores se mostraron aglomerados unos sobre otros.

8.5.2 Correlación entre el perfil espectroscópico y capacidad antioxidante

A diferencia de los valores obtenidos de compuestos fenólicos totales, los datos de capacidad antioxidante mostraron mayor variabilidad y dispersión, por lo que la matriz de datos requirió de la función detrending con el objetivo de suavizar y nivelar los desajustes ocasionados por las señales de fondo, ruido espectral y diferencias de línea base de los datos originales.

Aunado al preprocesamiento fue necesario realizar pruebas para seleccionar el número de muestras ideal que permitiera una buena predicción de los valores obtenidos de capacidad antioxidante a partir de los datos espectroscópicos. Esto fue planteado después de observar que, a raíz de la dispersión generada por los datos del bloque Y, el coeficiente de correlación obtenido a partir de las 168 muestras originales era <0.70 , reflejando una escasa correlación.

Se empleó el valor de la media para cada uno de los valores de capacidad antioxidante para establecer un modelo de RMCP, sin embargo el coeficiente de correlación no favoreció a la predicción de dicha variable (obteniéndose una $R^2=0.69$).

Partiendo de las 42 muestras por triplicado originales se seleccionó un replicado de cada una, verificando que los valores obtenidos fueran concordantes con los valores predichos por el sistema utilizando el método de preprocesamiento seleccionado. Este resultado también fue descartado pues la cantidad de

muestras resultante sólo constituía aproximadamente el 22% de las muestras originales y el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.85.

Finalmente, se seleccionó un porcentaje aproximado del 50% de las muestras originales cuyo comportamiento no mostrara porcentajes de error anómalos y los datos predichos fueran acorde a los valores de partida.

Partiendo de 83 muestras fue posible establecer un modelo de RMCP para estimar la capacidad antioxidante a partir de los datos espectroscópicos con un coeficiente de correlación de 0.95.

Nuevamente, las variedades de cebolla morada y cambray se establecieron en valores extremos, mientras que las variedades blanca y amarilla tuvieron contenidos similares de capacidad antioxidante. Dichos resultados fueron concordantes con los resultados de ANOVA y de RMCP para compuestos fenólicos totales, anteriormente mencionados.

En el siguiente apartado se abordan las conclusiones a las que se arribaron durante esta investigación.

IX. CONCLUSIONES

- El método de extracción con solvente M2 logró la estandarización de la obtención del perfil espectroscópico de infrarrojo medio para las variedades de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada.
- Una interferencia importante para la obtención repetitiva los perfiles espectroscópicos fue el contenido de agua en este tipo de matriz, por lo que fue necesario aplicar un método de extracción con solvente ya que el contenido de agua presente en el bulbo de las distintas variedades de cebolla anteriormente mencionadas dificultó la obtención de su perfil espectroscópico.
- El contenido de compuestos fenólicos totales fue mayor en la variedad de cebolla morada y menor en la variedad cambray en comparación con el resto de variedades incluidas en esta investigación.
- La capacidad antioxidante de las variedades de cebolla amarilla, blanca, cambray y morada reflejó una estrecha relación con su contenido de compuestos fenólicos, siendo la cebolla morada y cambray las variedades con mayor y menor contenido fenólico total y capacidad antioxidante, respectivamente.
- Las diferencias genotípicas entre las variedades de cebolla amarilla y blanca podrían ser mínimas ya que su composición química reflejada en el ACP, contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante mostraron escasas distinciones entre ellas.
- Existe correlación entre los perfiles espectroscópicos y el contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de las distintas variedades de cebolla de acuerdo a los modelos de RMCP planteados. No obstante, la variabilidad en los valores de actividades biológicas de referencia

generó una subestimación o una sobreestimación en la predicción, aún con un control estricto en el proceso de extracción y registro espectroscópico.

X. PERSPECTIVAS

En primer lugar, la obtención de las muestras de material vegetal puede mostrar mayor homogeneidad al considerar las diferentes tonalidades que se presentan en las distintas variedades de cebolla. Para disminuir este factor de error, se sugiere el uso de escalas de color, o equipos de espectrocolorimetría para seleccionar cultivos con contenido composicional posea características similares.

Continuar con el enfoque de cuantificación de compuestos bioactivos como compuestos fenólicos totales, añadiendo otras pruebas relacionadas a la capacidad antioxidante como la cuantificación de flavonoides totales para aportar resultados más específicos.

Con la finalidad de ampliar el estudio de la actividad antioxidante se sugiere la combinación del ensayo de DPPH con las pruebas ABTS, ORAC y FRAP.

Para mayor precisión de los resultados de actividades biológicas, se sugiere el empleo de material vegetal desecado o liofilizado para llevar a cabo la extracción con solvente, ya que está comprobado que el perfil espectroscópico no sufre alteraciones y el agua presente en los bulbos de cebolla interfiere negativamente con la concentración de sus contenidos composicionales.

Realizar un análisis factorial para la estandarización de las pruebas anteriormente mencionadas.

XI BIBLIOGRAFÍA

Abuajah, C., Ogbonna, A., & Osuji, C. (2014). Functional components and medicinal properties of food: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2522–2529. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1396-5>

Abdel-Gawad, M., Abdel-aziz, M., El-sayed, M., El-wakil, E., & Abdel-lateef, E. (2014). in Vitro Antioxidant, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Six Allium Species Growing in Egypt. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(4), 343–346.

Ahmad, N., Sharma, S., & Rai, R. (2012). Rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles using peels of Punica granatum. *Advanced Materials Letters*, 3(5), 376–380. <https://doi.org/10.5185/amlett.2012.5357>

Albishi, T., John, J. a., Al-Khalifa, A. S., & Shahidi, F. (2013). Antioxidative phenolic constituents of skins of onion varieties and their activities. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1191–1203. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.04.002>

Álvarez-Sánchez, B., Priego-Capote, F., García-Olmo, J., Ortiz-Fernández, M. C., Sarabia-Peinador, L. A., & Luque de Castro, M. D. (2013). Near-infrared spectroscopy and partial least squares-class modeling (PLS-CM) for metabolomics fingerprinting discrimination of intervention breakfasts ingested by obese individuals. *Journal of Chemometrics*, 27(9), 221–232. <https://doi.org/10.1002/cem.2526>

Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., Heredia, J. B., & Yildiz, F. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1131412. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>

Amma, S. I., Kim, S. H., & Pantano, C. G. (2016). Analysis of Water and Hydroxyl Species in Soda Lime Glass Surfaces Using Attenuated Total Reflection (ATR)-IR Spectroscopy. *Journal of the American Ceramic Society*, 99(1), 128–134. <https://doi.org/10.1111/jace.13856>

Andlauer, W., & Fürst, P. (2002). Nutraceuticals: A piece of history, present status and outlook. *Food Research International*, 35(2–3), 171–176. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00179-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00179-X)

Andújar, I., Recio, M., Giner, R., & Ríos, J. (2012). Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2012/906252>

Arai, Y., Watanabe, S., Kimira, M., Shimoi, K., Mochizuki, R., & Kinae, N. (2000). Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *The Journal of Nutrition*, 130(9), 2243–50. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10958819>

Aschoff, J. K., Riedl, K. M., Cooperstone, J. L., Högel, J., Bosy-Westphal, A., Schwartz, S. J., ... Schweiggert, R. M. (2016). Urinary excretion of citrus flavanones and their major catabolites after consumption of fresh oranges and pasteurized orange juice - a randomized cross-over study. *Molecular Nutrition & Food Research*, 1–18. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600315>

Baciu, A., Ranga, F., Fetea, F., & Zavoi, S. (2013). Fingerprinting Food Supplements and Their Botanical Ingredients by Coupled UV/Vis/FTIR Spectrometry. *Food Science and Technology*, 70(1), 8–15.

Baharvand-Ahmadi, B., Bahmani, M., & Zargaran, A. (2016). Overview of medicinal plants used. *International Journal of Cardiology*, 5(1), 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.01.021>

Banjerdpongchai, R., Wudtiwai, B., Khaw-on, P., Rachakhom, W., Duangnil, N., & Kongtawelert, P. (2016). Hesperidin from Citrus seed induces human hepatocellular carcinoma HepG2 cell apoptosis via both mitochondrial and death receptor pathways. *Tumor Biology*, 37(1), 227–237. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3774-7>

Baranowska, I., Hejniak, J., & Magiera, S. (2016). Development and validation of a RP-UHPLC-ESI-MS/MS method for the chiral separation and determination of flavanone, naringenin and hesperetin enantiomers. *Talanta*, 159, 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.020>

Bertelli, D., Maietti, A., Papotti, G., Tedeschi, P., Bonetti, G., Graziosi, R., ... Plessi, M. (2014). Antioxidant Activity, Phenolic Compounds, and NMR

Characterization of Balsamic and Traditional Balsamic Vinegar of Modena. *Food Analytical Methods*, 8(2), 371–379. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9902-y>

Bolaños, J. (2016). El método NIR combinado con el análisis quimiométrico PLS-da para determinar la adulteración del aceite de oliva con aceite de girasol. *Revista Pensamiento Actual*, 16(26), 163–172.

Bolvig, A. K., Adlercreutz, H., Theil, P. K., Jørgensen, H., & Bach Knudsen, K. E. (2016). Absorption of plant lignans from cereals in an experimental pig model. *The British Journal of Nutrition*, (October), 1–10. <https://doi.org/10.1017/S0007114516000829>

Bordia, A., Bansal, H., Arora, S., Singh, V. (1975). Effect of the essential oils of garlix and onion on alimentary hyperlipemia. *Atherosclerosis* 21, 15–19.

Borja-Aburto, V. H., González-Anaya, J. A., Dávila-Torres, J., Rascón-Pacheco, R. A., & González-León, M. (2016). Evaluation of the impact on non-communicable chronic diseases of a major integrated primary health care program in Mexico. *Family Practice*, 33(3), 219–225. <https://doi.org/10.1093/fampra/cmz049>

CAMO, A. (2005). The Unscrambler Manual. CAMO ASA Norway.

Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14.

Cascant, M. M., Sisouane, M., Tahiri, S., EL Krati, M., Cervera, M. L., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2016). Determination of total phenolic compounds in compost by infrared spectroscopy. *Talanta*, 153, 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.020>

Chan, C. L., Gan, R. Y., & Corke, H. (2016). The phenolic composition and antioxidant capacity of soluble and bound extracts in selected dietary spices and medicinal herbs. *International Journal of Food Science and Technology*, 565–573. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13024>

Chebrolu, K. K., Jifon, J., & Patil, B. S. (2016). Modulation of flavanone and furocoumarin levels in grapefruits (*Citrus paradisi* Macfad.) by production and storage conditions. *Food Chemistry*, 196, 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.028>

Chiluka, R., Gamble, A. B., Lucas, N. T., Hawkins, B. C., Bhumkar, A., Achanta, P. S., & Bobbala, R. K. (2016). Flavone C-glycosides from *Trichuriella monsoniae* (L.f.) Bennet. *Natural Product Research*, 30(19), 2235–2237. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1149707>

Choi, E.-Y., Lee, H., Woo, J. S., Jang, H. H., Hwang, S. J., Kim, H. S., ... Kim, W. (2015). Effect of onion peel extract on endothelial function and endothelial progenitor cells in overweight and obese individuals. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 31(9), 1131–5. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.04.020>

Correia-Costa, L., Cosme, D., Nogueira-Silva, L., Morato, M., Sousa, T., Moura, C., ... Azevedo, A. (2016). Gender and obesity modify the impact of salt intake on blood pressure in children. *Pediatric Nephrology*, 31(2), 279–288. <https://doi.org/10.1007/s00467-015-3210-7>

Crozier, A., Jaganath, I., & Clifford, M. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), 1001–1043. <https://doi.org/10.1039/b802662a>

Danilewicz, J. C. (2015). Folin-Ciocalteu, FRAP, and DPPH· assays for measuring polyphenol concentration in white wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66(4), 463–471. <https://doi.org/10.5344/ajev.2015.15025>

Dávila-Torres, J., González-Izquierdo, J., & Barrera-Cruz, A. (2015). Panorama de la obesidad en México. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 53(2), 240–249.

de Souza, L., Filho, A., de Túlío, F., & Nowaki, R. (2015). Effect of sulfur dose in the productivity and quality of onions. *Australian Journal of Crop Science*, 9(8), 728–733.

Farhoosh, R., Johnny, S., Asnaashari, M., Molaahmadibahraseman, N., & Sharif, A. (2016). Structure-antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid. *Food Chem*, 194, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.003>

Foti, M., & Amorati, R. (2016). Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health. In S. Ahmad (Ed.), *Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health* (pp. 49–63). United Kingdom: CRC Press.

Frenk, J., & Gómez-Dantés, O. (2016). Atención a la salud o la enfermedad: restableciendo el equilibrio. *Salud Pública de México*, 58(1), 84–88. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342016000100015&lng=es&nrm=iso&tlng=en

Fritsch, R. M., & Keusgen, M. (2006). Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulfoxides in the genus *Allium* L. (Alliaceae). *Phytochemistry*, 67(11), 1127–1135. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.03.006>

Gervasi, T., Oliveri, F., Gottuso, V., Squadrito, M., Bartolomeo, G., Cicero, N., & Dugo, G. (2016). Nero d'Avola and Perricone cultivars: determination of polyphenols, flavonoids and anthocyanins in grapes and wines. *Natural Product Research*, 30(20), 2329–2337. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1174229>

González-Peña, D., Colina-Coca, C., Char, C. D., Cano, M. P., De Ancos, B., & Sánchez-Moreno, C. (2013). Hyaluronidase inhibiting activity and radical scavenging potential of flavonols in processed onion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(20), 4862–4872. <https://doi.org/10.1021/jf3054356>

Gökçe, A., Kaya, C., Serçe, S., & Özgen, M. (2010). Effect of scale color on the antioxidant capacity of onions. *Scientia Horticulturae*, 123, 431–435. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.11.007>

Greyling, A., Bruno, R. M., Draijer, R., Mulder, T., Thijssen, D. H. J., Taddei, S., ... Ghiadoni, L. (2016). Effects of wine and grape polyphenols on blood pressure, endothelial function and sympathetic nervous system activity in treated hypertensive subjects. *Journal of Functional Foods*, 27, 448–460. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.10.003>

Griffiths, G., Trueman, L., Crowther, T., Thomas, B., & Smith, B. (2002). Onions - A global benefit to health. *Phytotherapy Research*, 16(7), 603–615. <https://doi.org/10.1002/ptr.1222>

Guo, S., Guan, L., Cao, Y., Li, C., Chen, J., Li, J., ... Wu, B. (2016). Diversity of polyphenols in the peel of apple (*Malus* sp.) germplasm from different countries of origin. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 222–230. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12994>

Henagan, T. M., Cefalu, W. T., Ribnicky, D. M., Noland, R. C., Dunville, K., Campbell, W. W., ... Morrison, C. D. (2015). In vivo effects of dietary quercetin and quercetin-rich red onion extract on skeletal muscle mitochondria, metabolism, and insulin sensitivity. *Genes & Nutrition*, 10(1), 2. <https://doi.org/10.1007/s12263-014-0451-1>

Hu, Y., Pan, Z. J., Liao, W., Li, J., Gruget, P., Kitts, D. D., & Lu, X. (2016). Determination of antioxidant capacity and phenolic content of chocolate by attenuated total reflectance-Fourier transformed-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 202, 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.130>

Hur, S. J., Lee, S. J., Kim, D. H., Chun, S. C., & Lee, S. K. (2013). Onion extract structural changes during in vitro digestion and its potential antioxidant effect on brain lipids obtained from low- and high-fat-fed mice. *Free Radical Research*, 47(12), 1009–1015. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.845664>

Institute of Plant Science and Genetics in Agriculture (2002). Evolution, Domestication and Taxonomy. In H. Rabinowith & L. Currah (Eds.), *Allium Crop Science: Recent Advances* (pp. 5–30). United Kingdom.

Jiang, N., Doseff, A. I., & Grotewold, E. (2016). Flavones: From biosynthesis to health benefits. *Plants (Basel)*, 5(2), 1–25. <https://doi.org/10.3390/plants5020027>

Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 33, 213–217. <https://doi.org/10.1021/jf00062a013>

Kamiloglu, S., Capanoglu, E., Yilmaz, O., Duran, A. F., & Boyacioglu, D. (2014). Investigating the antioxidant potential of Turkish herbs and spices. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6(2), 151–158. <https://doi.org/10.3920/QAS2012.0237>

Kamio, N., Suzuki, T., Watanabe, Y., Suhara, Y., & Osakabe, N. (2016). A single oral dose of flavan-3-ols enhances energy expenditure by sympathetic nerve stimulation in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 91, 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.030>

Kaur, G., Gupta, V., Christopher, A. F., & Bansal, P. (2016). Antioxidant Potential of Most Commonly Used Vegetable - Onion (*Allium cepa* L .). *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*, 1(1), 1–5. <https://doi.org/10.9734/JOCAMR/2016/26718>

Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>

Khan, A., Ali, N. H., Santercole, V., Paglietti, B., Rubino, S., Kazmi, S. U., & Farooqui, A. (2016). *Camellia sinensis* Mediated Enhancement of Humoral Immunity to Particulate and Non-particulate Antigens. *Phytotherapy Research*, 30(1), 41–48. <https://doi.org/10.1002/ptr.5498>

Khatri, D., & Juvekar, A. (2016). Kinetics of Inhibition of Monoamine Oxidase Using Curcumin and Ellagic Acid. *Pharmacognosy Magazine*, 12(2), 116–120. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.182168>

Kim, J., Cha, Y.-J., Lee, K.-H., & Park, E. (2013). Effect of onion peel extract supplementation on the lipid profile and antioxidative status of healthy young women: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover trial. *Nutrition Research and Practice*, 7(5), 373–9. <https://doi.org/10.4162/nrp.2013.7.5.373>

Kirk, P. M., & Crompton, J. G. (1984). Pathology and taxonomy of *Cladosporium* leaf blight of onion (*Allium cepa*) and leek (*A. porrum*). *Plant Pathology*, 33, 317–324. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1984.tb01326.x>

Koch, K., Büchter, C., Havermann, S., & Wätjen, W. (2015). The Lignan Pinoresinol Induces Nuclear Translocation of DAF-16 in *Caenorhabditis elegans* but has No Effect on Life Span, 901(August 2014), 894–901.

Kuhn, B. M., Errafi, S., Bucher, R., Dobrev, P., Geisler, M., Bigler, L., ... Ringli, C. (2016). 7-Rhamnosylated Flavonols Modulate Homeostasis of the Plant Hormone Auxin and Affect Plant Development. *Journal of Biological Chemistry*, 291(10), 5385–5395. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.701565>

Kumar, N. S., Punyasiri, P. A. N., & Wijekoon, W. A. M. B. (2016). The hexane - ethyl acetate - methanol - water system for the separation of theaflavins

from black tea (*Camellia sinensis*) using high - speed counter - current chromatography, 45(2), 79–86.

Landete, J. (2011). Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International*, 44(5), 1150–1160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.027>

Ledesma, C., Priego-Capote, F., & Luque de Castro, M. (2016). Comparative study of the effect of sample pretreatment and extraction on the determination of flavonoids from lemon (*Citrus limon*). *PLoS ONE*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148056>

Lee, K. A., Kim, K.-T., Kim, H. J., Chung, M.-S., Chang, P.-S., Park, H., & Pai, H.-D. (2014). Antioxidant activities of onion (*Allium cepa* L.) peel extracts produced by ethanol, hot water, and subcritical water extraction. *Food Science and Biotechnology*, 23(2), 615–621. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0084-6>

Li, M., Kelly, B. T., & Hagerman, A. E. (n.d.). Isolation of (-) - Epigallocatechin from Green Tea Extract by Means of Immobilized Tannase.

Liehn, E. A., & Hector A., C.-F. (2015). Inflammation between defense and disease: impact on tissue repair and chronic sickness. *Discoveries*, 3(1), e42. <https://doi.org/10.15190/d.2015.34>

Liu, C., Long, J., Zhu, K., Liu, L., Yang, W., Zhang, H., ... Deng, X. (2016). Characterization of a Citrus R2R3-MYB Transcription Factor that Regulates the Flavonol and Hydroxycinnamic Acid Biosynthesis. *Scientific Reports*, 6(April), 25352. <https://doi.org/10.1038/srep25352>

Lohse, T., Rohrmann, S., Bopp, M., & Faeh, D. (2016). Heavy smoking is more strongly associated with general unhealthy lifestyle than obesity and underweight. *PLoS ONE*, 11(2), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148563>

López-Biedma, A., Sánchez-Quesada, C., Delgado-Rodríguez, M., & Gaforio, J. J. (2016). The biological activities of natural lignans from olives and virgin olive oils: A review. *Journal of Functional Foods*, 26, 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.07.005>

López, M., Ballinas, Y., Soto, J., & Medina, N. (2016). Conocimiento, aceptación y uso de la medicina tradicional, alternativa y/o complementaria por médicos del Seguro Social de Salud. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 1(1), 13–18.

Lu, X., Wang, J., Hamzah, A., Ross, C., Powers, J., Juming, T., Rasco, B. (2011). Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 129(2), 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.105>

Lu, M., Yuan, B., Zeng, M., & Chen, J. (2011). Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Research International*, 44(2), 530–536. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.055>

Madrid-Gambin, F., Garcia-Aloy, M., Vázquez-Fresno, R., Vegas-Lozano, E., de Villa Jubany, M. C. R., Misawa, K., ... Andres-Lacueva, C. (2016). Impact of chlorogenic acids from coffee on urine metabolome in healthy human subjects. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.038>

Martin, B., MacInnis, M., Gillen, J., Skelly, L., & Gibala, M. (2016). Short-term green tea extract supplementation attenuates the postprandial blood glucose and insulin response following exercise in overweight men. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41, 1057–1063. <https://doi.org/10.1139/apnm-2016-0169>

Marvibaigi, M., Amini, N., Supriyanto, E., Majid, F., Jaganathan, S., Jamil, S., ... Nasiri, R. (2016). Antioxidant activity and ROS-dependent apoptotic effect of *scurrula ferruginea* (jack) danser methanol extract in human breast cancer cell MDA-MB-231. *PLoS ONE*, 11(7), 1–36. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158942>

Mbamalu, O., Antunes, E., Samsodien, H., & Syce, J. (2016). HPLC Determination of Selected Flavonoid Glycosides and their corresponding aglycones in *Sutherlandia frutescens* materials. *Medicinal & Aromatic Plants*, 6(2). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000246>

Medina, J. (2008). *Cebolla, Guía Técnica*. Santo Domingo: Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Megías, C., Cortés-Giraldo, I., Alaiz, M., Vioque, J., & Girón-Calle, J. (2015). Isoflavones in chickpea (*Cicer arietinum*) protein concentrates. *Journal of Functional Foods*, 21, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.012>

Micheli, L., Nencini, C., & Menchiari, A. (2015). Evaluation of antioxidant defense system of Wild *Allium neapolitanum* Cyr . From Italy. *The Pharma Innovation Journal*, 4(3), 56–60.

Mollavali, M., Bolandnazar, S. A., Schwarz, D., Rohn, S., Riehle, P., & Zaare Nahandi, F. (2016). Flavonol Glucoside and Antioxidant Enzyme Biosynthesis Affected by Mycorrhizal Fungi in Various Cultivars of Onion (*Allium cepa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(1), 71–77. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04791>

Monici, M., Mulinacci, N., Baglioni, P., & Vincieri, F. F. (1993). Flavone photoreactivity. UV-induced reactions in organic solvents and micellar systems. *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology*, 20(2–3), 167–172. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(93\)80147-2](https://doi.org/10.1016/1011-1344(93)80147-2)

Mozaffarian, D., Fahimi, S., Singh, G. M., Micha, R., Khatibzadeh, S., Engell, R. E., ... Powles, J. (2014). Global Sodium Consumption and Death from Cardiovascular Causes. *New England Journal of Medicine*, 371, 624–634. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1304127>

Mueller, C. (1999). The Regulatory Status of Medical Foods and Dietary Supplements in the United States. *Nutrition*, 15(3), 249–251.

Nakamura, T., Murota, K., Kumamoto, S., Misumi, K., Bando, N., Ikushiro, S., ... Terao, J. (2014). Plasma metabolites of dietary flavonoids after combination meal consumption with onion and tofu in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(2), 310–317. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300234>

Nicoletti, I., Martini, D., De Rossi, A., Taddei, F., D'Egidio, M. G., & Corradini, D. (2013). Identification and quantification of soluble free, soluble conjugated, and insoluble bound phenolic acids in durum wheat (*triticum turgidum*

L. var. durum) and derived products by RP-HPLC on a semimicro separation scale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(48), 11800–11807. <https://doi.org/10.1021/jf403568c>

Organización Mundial de la Salud (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. *Organización Mundial de La Salud*, 72. Retrieved from <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>

Organización Mundial de la Salud. Enfermedades no transmisibles [documento en internet] [consultado 15 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en>

Organización Mundial de la Salud. ENT. Perfiles de países [documento en internet] [consultado 15 de octubre de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/nmh/countries/mex_es.pdf?ua=1

Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68–81. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-2002-2>

Peñarrieta, M., Alvarado, J., Bergenståhl, B., & Åkessonb, B. (2007). Spectrophotometric methods for the measurement of total phenolic compounds and total flavonoids in Foods. *Revista Boliviana de Química*, 24(1), 5–9. Retrieved from http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S0250-54602007000100002&script=sci_pdf&lng=es

Peterson, G. L. (1979). Review of the folin phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, farr and randall. *Analytical Biochemistry*, 100(2), 201–220. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90222-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90222-7)

Powers, S., Duarte, J., Kavazis, A., & Talbert, E. (2010). Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Experimental Physiology*, 95(1), 1–9. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.050526>

Pravst, I. (2012). Functional Foods in Europe: A Focus on Health Claims. *Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry*, (Ashwell 2002), 165-. <https://doi.org/10.5772/31057>

Reininger, B. M., Wang, J., Fisher-Hoch, S. P., Boutte, A., Vatcheva, K., & McCormick, J. B. (2015). Non-communicable diseases and preventive health

behaviors: a comparison of Hispanics nationally and those living along the US-Mexico border. *BMC Public Health*, 15(1), 564. <https://doi.org/10.1186/s12889-015-1850-y>

Rivas-Marino, G., Negin, J., Salinas-Rodríguez, A., Manrique-Espinoza, B., Sterner, K. N., Snodgrass, J., & Kowal, P. (2015). Prevalence of overweight and obesity in older Mexican adults and its association with physical activity and related factors: An analysis of the study on global ageing and adult health. *American Journal of Human Biology*, 27(3), 326–333. <https://doi.org/10.1002/ajhb.22642>

Rodríguez, B., Peña-Méndez, E., Havel, J., Rodríguez, E., & Díaz, C. (2010). Cluster analysis and artificial neural networks multivariate classification of onion varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(21), 11435–11440. <https://doi.org/10.1021/jf102014j>

Rosillo, M. A., Sanchez-Hidalgo, M., Cárdeno, A., & Alarcón De La Lastra, C. (2011). Protective effect of ellagic acid, a natural polyphenolic compound, in a murine model of Crohn's disease. *Biochemical Pharmacology*, 82(7), 737–745. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.06.043>

Rybarczyk-Plonska, A., Wold, A. B., Bengtsson, G. B., Borge, G. I. A., Hansen, M. K., & Hagen, S. F. (2016). Flavonols in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) flower buds as affected by postharvest temperature and radiation treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 116, 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.12.023>

SAGARPA (2014). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Recuperado el 8 de agosto de 2016, de <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>

Secretaría de Salud. Unidad de análisis económico. Impacto financiero del Sobrepeso y Obesidad en México 1999-2023. Nota Técnica [documento electrónico] Consultado el 15 de octubre de 2016: http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/09/impacto_financiero_OyS_060815_oment.pdf

Sepporta, M. V., Mazza, T., Morozzi, G., & Fabiani, R. (2013). Pinoresinol inhibits proliferation and induces differentiation on human HL60 leukemia cells.

Nutrition and Cancer, 65(8), 1208–18.
<https://doi.org/10.1080/01635581.2013.828089>

Sharma, K., Assefa, A. D., Kim, S., Ko, E. Y., Lee, E. T., & Park, S. W. (2014). Evaluation of total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of 18 Korean onion cultivars: A comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(8), 1521–1529. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6450>

Shen, Y., Sun, Y., Qiao, L., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2012). Influence of hot water dip on fruit quality, phenolic compounds and antioxidant capacity of Satsuma mandarin during storage. *Food Science and Technology International*, 19(6), 511–521. <https://doi.org/10.1177/108201321245766>

Šibul, F., Orčić, D., Vasić, M., Anačkov, G., Nadpal, J., Savić, A., & Mimica-Dukić, N. (2016). Phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory potential of herb and root extracts of seven selected legumes. *Industrial Crops and Products*, 83, 641–653. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.057>

Smith, C., Lombard, K., Peffley, E., & Liu, W. (2003). Genetic Analysis of Quercetin in Onion (*Allium cepa* L.) “Lady Raider.” *The Texas Journal of Agriculture and Natural Resource*, 16, 24–28.

Socquet-Juglard, D., Bennett, A. A., Manns, D. C., Mansfield, A. K., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Griffiths, P. D. (2016). Effects of Growth Temperature and Postharvest Cooling on Anthocyanin Profiles in Juvenile and Mature *Brassica oleracea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(7), 1484–1493. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05309>

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18), 3268–3295. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700261>

Suckling, R. J., & Swift, P. A. (2015). The health impacts of dietary sodium and a low-salt diet. *Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London*, 15(6), 585–588. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.15-6-585>

Syed, U. T., Brazinha, C., Crespo, J. G., & Ricardo-da-Silva, J. M. (2016). Valorisation of grape pomace: Fractionation of bioactive flavan-3-ols by membrane

processing. *Separation and Purification Technology*.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.07.039>

Trembl, J., & Šmejkal, K. (2016). Flavonoids as Potent Scavengers of Hydroxyl Radicals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(Betteridge 2000), 720–738. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12204>

Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246. <https://doi.org/10.3390/nu2121231>

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 16.1 (2004).

Vicente, M., de la Cruz, C., Morales, R., Martínez, C., & Villarreal, M. (2014). Cansancio, cuidados y repercusiones en cuidadores informales de adultos mayores con enfermedades crónico degenerativas. *European Journal of Investigation in Health*, 4(2), 151–160. <https://doi.org/10.1989/ejihpe.v4i2.62>

Wang, Y., Li, C., Xiang, L., Huang, W., & He, X. (2016). Spirostanol saponins from Chinese onion (*Allium chinense*) exert pronounced anti-inflammatory and anti-proliferative activities. *Journal of Functional Foods*, 25, 208–219. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.005>

Wang, Y., Singh, A., Nelson, H., Kaiser, A., Reker, N., Hooks, T., ... Vorsa, N. (2016). Urinary Clearance of Cranberry Flavonol Glycosides in Humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(42), 7931–7939. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03611>

Warner, E. F., Zhang, Q., Raheem, K. S., O'Hagan, D., O'Connell, M. A., & Kay, C. D. (2016). Common Phenolic Metabolites of Flavonoids, but Not Their Unmetabolized Precursors, Reduce the Secretion of Vascular Cellular Adhesion Molecules by Human Endothelial Cells. *Journal of Nutrition*, (C), 1–9. <https://doi.org/10.3945/jn.115.217943>

Wu, F., Guo, Y., Chatterji, S., Zheng, Y., Naidoo, N., Jiang, Y., ... Kowal, P. (2015). Common risk factors for chronic non-communicable diseases among older adults in China, Ghana, Mexico, India, Russia and South Africa: the study on global AGEing and adult health (SAGE) wave 1. *BMC Public Health*, 15(1), 88. <https://doi.org/10.1186/s12889-015-1407-0>

Wu, L.-Z., Wu, H.-F., Xu, X.-D., & Yang, J.-S. (2011). Two New Flavone C-Glycosides from *Trollius ledebourii*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 59(11), 1393–1395. <https://doi.org/10.1248/cpb.59.1393>

Yatsu, F. K. J., Koester, L. S., & Bassani, V. L. (2016). Isoflavone-aglycone fraction from glycine max: A promising raw material for isoflavone-based pharmaceutical or nutraceutical products. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26(2), 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.12.004>

Yin, X., Singer, S. D., Qiao, H., Liu, Y., Jiao, C., Wang, H., ... Wang, X. (2016). Insights into the Mechanisms Underlying Ultraviolet-C Induced Resveratrol Metabolism in Grapevine (*V. amurensis* Rupr.) cv. “Tonghua-3.” *Frontiers in Plant Science*, 7(April), 503. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00503>

Zhang, Y., Wang, L., Yao, Y., Yan, J., & He, Z. (2012). Phenolic acid profiles of Chinese wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, 56(3), 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.07.006>